

435620

P. - 59.680

IV/bc
Case S17

14 MAR. 1975

Int. Cl. C07D//A61K

MEMORIA DESCRIPTIVA

para solicitar PATENTE DE INVENCION EN ESPAÑA por 20 años

a nombre de ALFA FARMACEUTICI S.p.A.

entidad italiana

establecida en Via Ragazzi del 99, Nº 5, 40133 Bologna,
Italia

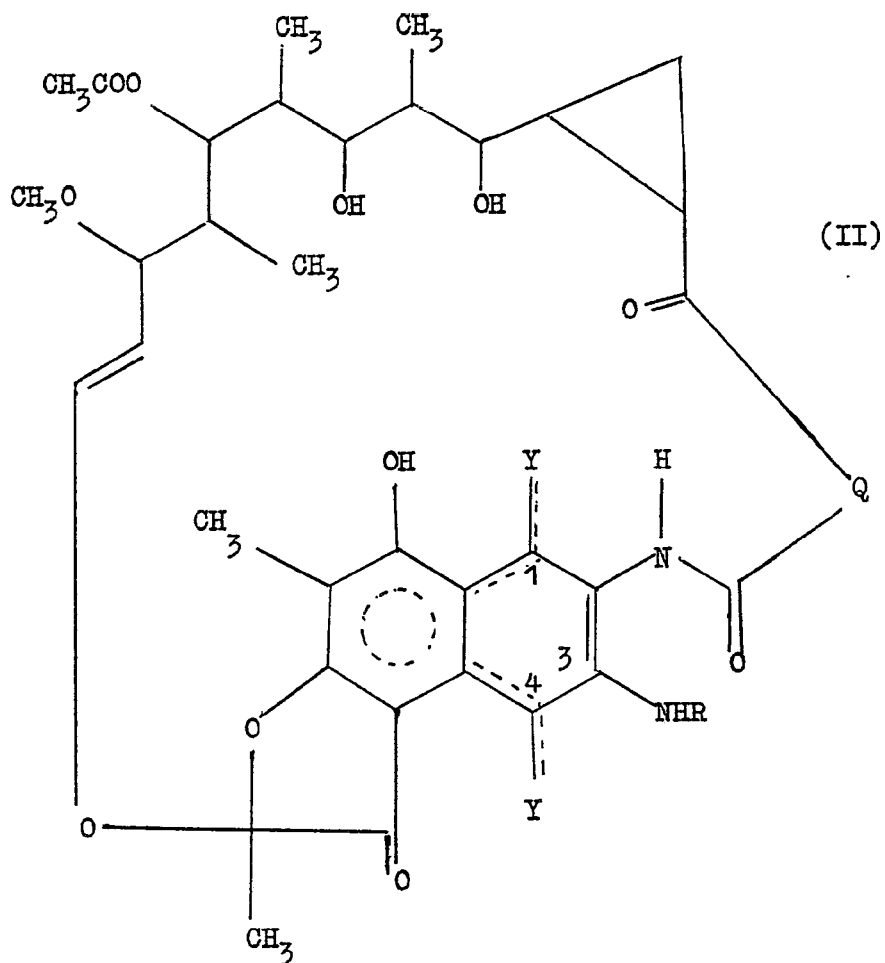
por: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS DE
RIVADOS DE TOLIPOMICINONA"
(Clase Internacional C07d)

10-2-75.

Se sabe que la tolipomicina Y es un anti-
biótico muy potente, pero tiene la desventaja de que es
extremadamente inestable en un medio ácido. Por otra par
te, la tolipomicinona que es estructuralmente muy simi-
5 lar a la Tolipomicina Y, tiene mejor estabilidad en pre
sencia de ácidos pero posee una actividad antibiótica mu
cho menor. Ahora se han descubierto ciertos nuevos deriva
dos de tolipomicinona que tienen una actividad antibió-
tica inesperadamente buena junto con excelente estabili
10 dad frente a los ácidos. Estos derivados son: las 3-(ami
no sustituido)-tolipomicinonas, las 3-(amino sustitui-
do)-16,17-dihidrotolipomicinonas, las 3,16-di-(amino
sustituido)-16,17-dihidrotolipomicinonas, las 3-(amino
sustituido)-1,4-dihidrotolipomicinonas, las 3-(amino sus
15 tituido)-1,4,16,17-tetrahidrotolipomicinonas y las 3,16-
-di-(amino sustituido)-1,4,16,17-tetrahidrotolipomicino
nas.

Así, el presente invento consiste en com-
puestos que tienen la fórmula general (II).

10-2-75.



en donde:

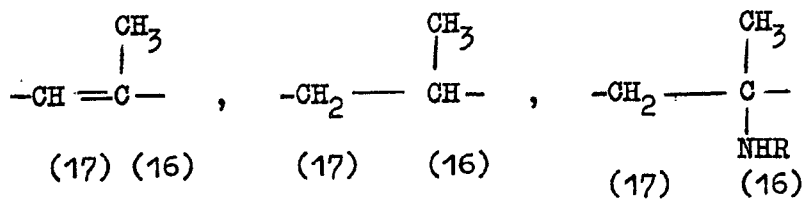
R representa un grupo hidrocarbonado alifático cuya cadena de átomos de carbono puede estar interrumpida por uno o más átomos de oxígeno y/o azufre y/o nitrógeno, y que puede estar sustituido o no sustituido;

5

7

Q representa uno de los grupos:

10-2-75.



5

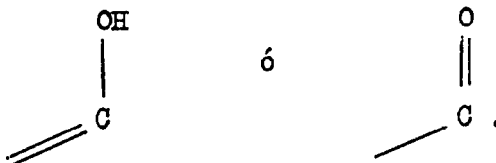
(siendo R como se ha definido antes); y
los grupos:

10



representan

15

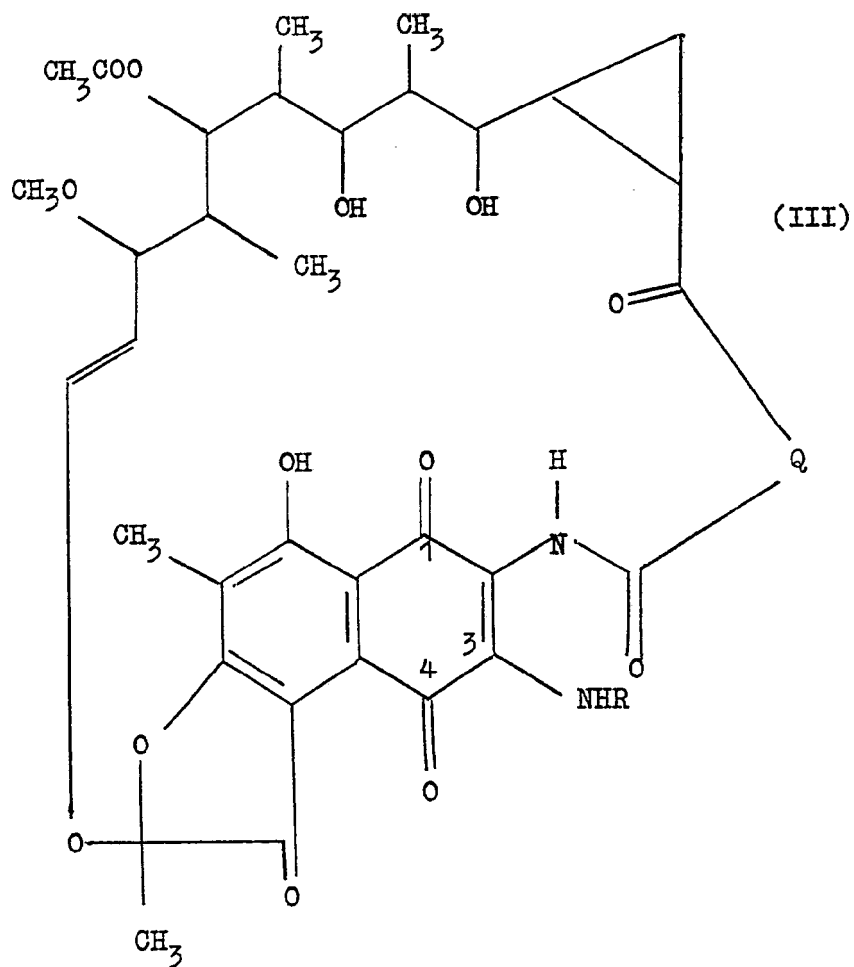


20

De acuerdo con una realización del presente invento, se proporcionan 3-(amino sustituido)-tolipomicinonas, 3-(amino sustituido)-16,17-dihidrotolipomicinonas y 3,16-di-(amino sustituido)-16,17-dihidrotolipomicinonas que tienen la fórmula general (III):

24

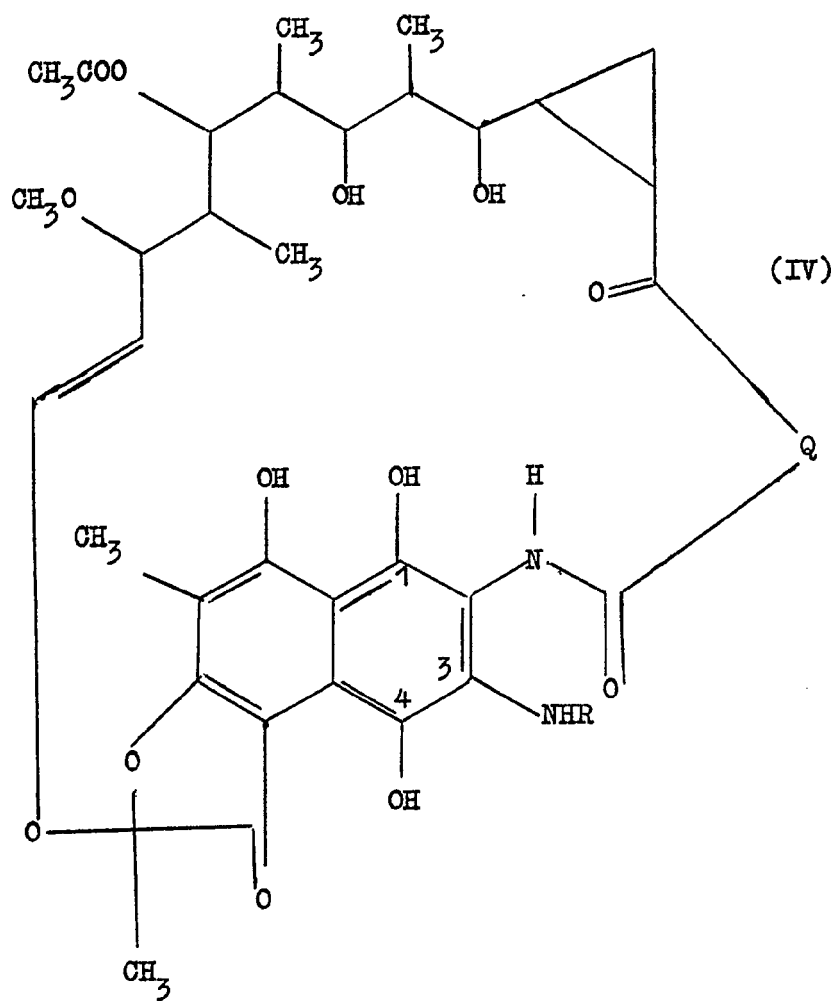
10-2-75.



(en la cual R y Q son como se han definido antes).

En otra realización del invento, se proporcionan derivados de 1,4-dihidrotolipomicinona que tienen la fórmula general siguiente (IV):

10-2-75.



(en la cual R y Q son como se han definido antes).

Si el grupo R está sustituido, los sustituyentes pueden ser uno o más de los siguientes: grupos cicloalcohilo sustituidos o no sustituidos; grupos cicloalquenilo sustituidos o no sustituidos; grupos arilo

5

10-2-75.

sustituídos o no sustituídos; radicales heterocíclicos sustituídos o no sustituídos; grupos hidroxi; grupos alcoxi, ariloxi o cicloalcoxi; grupos carboxílicos y/o sulfónicos, bien como ácidos libres o como los ésteres
5 o como las amidas; átomos de halógeno, grupos aldehido o cetona; grupos nitrilo; y grupos amino sustituídos o no sustituídos. Los grupos cicloalcoholo, los grupos cicloalquenilo, los grupos arilo y los radicales heterocíclicos pueden estar ellos mismos sustituídos, siendo
10 los sustituyentes preferidos uno o más de los siguientes: grupos cíclicos saturados o insaturados, grupos alifáticos de cadena lineal o ramificada; grupos hidroxialcohilo; grupos hidroxialcoholeno; grupos amino o alcoholamino o dialcoholamino-alcoholo o alcoholeno; grupos hidroxi;
15 grupos alcoxi; grupos carboxílicos o sulfónicos, bien como ácidos libres o como ésteres o amidas; átomos de halógeno; grupos haloalcoholo; grupos aldehido o cetona; grupos nitrilos; o grupos amino sustituídos o no
20 sustituídos.

Ejemplos de grupos R son: grupos alcoholo o alcoholeno, que tienen preferiblemente de 1 a 10 átomos de carbono; grupos cicloalcoholalcoholo; grupos cicloalquenilalcoholo; grupos arilalcoholo o grupos arilalquenilo,
25 tales como grupos fenilalcoholo en los cuales el grupo fe

nilo puede estar insustituido o puede tener uno o más
sustituyentes, que pueden ser iguales o diferentes, ta-
les como grupos alcohol inferior, grupos alcoxi infe-
rior, grupos amino, grupos alcoholamino, grupos dialco-
5 hilamino, átomos de halógeno, grupos carboxílicos o sul-
fónicos (que pueden ser ácidos libres, ésteres o amidas).
Ejemplos específicos son los grupos metilo, etilo, 2-hi-
droxietilo y 3-hidroxipropilo.

10 Ejemplos de grupos R en los cuales una ca-
dena alifática de átomos de carbono está interrumpida
por átomos de oxígeno son: grupos alcoxialcoholo, tales
como grupos metoximetilo, etoximetilo, metoxietilo, y
etoxietilo; grupos ariloxialcoholo, tales como fenoxime-
tilo; y grupos heterocicliloxialcoholo.

15 Ejemplos de grupos R en los cuales una ca-
dena alifática de átomos de carbono está interrumpida
por un átomo de nitrógeno son: grupos alcoholaminoalco-
hilo; grupos dialcoholaminoalcoholo, tales como grupos
dimetilaminometilo, dietilaminometilo, dimetilaminoetilo,
20 dietilaminoetilo, dimetilaminopropilo, y dietilaminopro-
pilo; grupos arilaminoalcoholo, tales como fenilaminome-
tilo; y grupos heterociclilaminoalcoholo

25 Ejemplos de grupos R que tienen una cadena
alifática sustituida por un grupo heterocíclico son:
grupos piridilalcoholo; grupos piperidilalcoholo; gru-

10-2-75.

pos morfolinilalcoholo; grupos piperazilalcoholo; grupos tienilalcoholo; grupos furilalcoholo; grupos tetra-
hidrofurilalcoholo; grupos imidazolilalcoholo; grupos oxazolilalcoholo; grupos pirazolilalcoholo; grupos pirrilalcoholo; grupos pirrolidilalcoholo; y grupos triazolilalcoholo.

Ejemplos de grupos R en los cuales una cadena alifática tiene un grupo arilo sustituido son: bencilo; clorobencilo; metoxibencilo; feniletilo; metoxifeniletilo; clorofeniletilo; metilaminobencilo; dimetilaminobencilo; etilaminobencilo; dietilaminobencilo; metiletilaminobencilo; metilaminofeniletilo; dimetilaminofeniletilo; etilaminofeniletilo; y dietilaminofeniletilo.

Una clase preferida de compuestos del presente invento son aquellos en los que el grupo amino en la posición 3 está unido a un grupo metileno que forma parte del grupo R: es decir compuestos que contienen la estructura $-NHCH_2-$ en la posición 3. Ejemplos específicos de dichos grupos son: metilo; etilo; bencilo; 4-(N,N-dimetilamino)-bencilo; N-morfolinometilo; 2-hidroxi-etilo; 3-hidroxi-propilo; 2-(N,N-dimetilamino)-etilo; 3-(N,N-dimetilamino)-propilo; 4-piridilmetilo; 2-tetrahidrofurilmetilo; 4-(N-metil)-piperidil-metilo.

25
10-2-75.

Entre los nuevos compuestos del presente

invento están los siguientes:

1. 3-bencilaminotolipomicinona
 2. 3,16-di-(bencilamino)-16,17-dihidrotolipomicinona
 3. 3-metilaminotolipomicinona
 - 5 4. 3,16-di-(metilamino)-16,17-dihidrotolipomicinona
 5. 3-(2-morfolinoetilamino)-tolipomicinona
 6. 3,16-bis-(2-morfolinoetilamino)-16,17-dihidrotolipomicinona
 7. 3-(2-hidroxietilamino)-tolipomicinona
 - 10 8. 3- β -(N,N-dimetilamino)-propilamino γ -tolipomicinona.
 9. 3-bencilamino-16,17-dihidrotolipomicinona.
 10. 3- α -(dimetilamino)-etilamino γ -tolipomicinona
 11. 3- α -(N-metilpiperidil)-metilamino γ -tolipomicinona
 12. 3-(3-hidroxi-propilamino)-tolipomicinona.
 - 15 13. 3-metilamino-16,17-dihidrotolipomicinona.
 14. 3-(4-piridil)-metilamino-tolipomicinona
 15. 3-(2-tetrahidrofuril)-metilamino-tolipomicinona.
 16. 3-(piperonilamino)-tolipomicinona.
 17. 3-(p-dimetilamino-bencilamino)-tolipomicinona
 - 20 18. 3- α -(4-imidazolil)etilamino γ -tolipomicinona
 19. 3- α - γ -(4-metilpiperazin-1-il)-propilamino γ -tolipomicinona
 20. 3-(2-tenilamino)-tolipomicinona
 21. 3-(β -imidazolid-2-ona-1-il-etilamino)-tolipomicinona
 - 25 22. 3- β -(p-hidroxifenil)-etilamino γ -tolipomicinona
- 10-2-75.

23. 3-(4-hidroxi-3-metoxibencilamino)-tolipomicinona
24. 3- β -(2-piridil)-etilamino-7-tolipomicinona
25. 3-(3-piridilmetilamino)-tolipomicinona
26. 3-(β -piperidino-etilamino)-tolipomicinona
- 5 27. 3- β -(5-nitro-pirid-2-il)-aminoetilamino-7-tolipomicinona
28. 3-(N-metilpirrol-2-il-metilamino)-tolipomicinona
29. 3-(N-metilpirrolidin-2-il-metilamino)-tolipomicinona
- 10 30. 3-(pirazinilmetilamino)-tolipomicinona
31. 3- β -(1,2,4-triazol-1-il)-etilamino-7-tolipomicinona
32. 3- γ -(1,2,4-triazol-1-il)-propilamino-7-tolipomicinona
33. 3- γ -(1,2,3,4-tetrazol-1-il)-propilamino-7-tolipomicinona
- 15 34. 3-(N-metilpiperid-3-il-metilamino)-tolipomicinona
35. 3-(pirid-2-il-metilamino)-tolipomicinona
36. 3-(2-tenilamino)-1,4-dihidrotolipomicinona
37. 3- β -morfolinoetil-amino-7-1,4-dihidrotolipomicinona
- 20 38. 3-(N,N-dimetilaminoetil-amino)-1,4-dihidrotolipomicinona
39. 3-metilamino-1,4-dihidrotolipomicinona
40. 3-tetrahidrofurfurilamino-1,4-dihidrotolipomicinona
41. 3-(3-hidroxi-propilamino)-1,4-dihidrotolipomicinona.

25 Los compuestos 1 a 35 son compuestos nuevos
10-2-75.

nos que están comprendidos en la fórmula general anterior (III), mientras que los compuestos 36 a 41 son compuestos nuevos que están comprendidos en la fórmula general anterior (IV). Estos compuestos se identificarán más adelante por los números dados en la lista anterior.

Los compuestos de la fórmula general (III) pueden prepararse por adición de una amina a tolipomicinona y preferiblemente después añadir un agente oxidante, tal como ferricianuro de potasio, dióxido de manganeso, persulfato de amonio o peróxido de hidrógeno. El procedimiento se lleva a cabo generalmente en presencia de un disolvente, por ejemplo cloroformo, benceno, tolueno o dioxano. La temperatura a la cual se lleva a cabo la reacción no es crítica y, por esta razón se lleva a cabo preferiblemente a temperatura ambiente. Los reaccionantes amina y tolipomicinona se emplean preferiblemente en proporciones estequiométricas o la amina se emplea en exceso.

Dependiendo de la reactividad de la amina, es posible bien introducir el sustituyente amino solamente en la posición 3, o bien tanto en la posición 3 como en la posición 16, para formar la 3,16-di-(amino sustituido)-16,17-dihidrotolipomicinona. Normalmente, un gran exceso de amina dará como resultado una sustitución

10-2-75.

tanto en la posición 3 como en la posición 16, mientras que proporciones equimolares o un exceso moderado de amina hará predominar la sustitución en la posición 3. Las pequeñas cantidades de los derivados 3,16-di-(amino sustituido) que se forman ocasionalmente durante la preparación de los derivados en la posición 3 pueden separarse por técnicas conocidas, por ejemplo por cromatografía.

5

10

Las 3-(amino sustituido)-16,17-dihidrotolipomicinonas pueden prepararse como se ha descrito antes, partiendo de 16,17-dihidrotolipomicinona. Las 3,16-di-(amino sustituido)-16,17-dihidrotolipomicinonas pueden prepararse partiendo de bien tolipomicinona o de 16,17-dihidrotolipomicinona.

15

20

Los compuestos de fórmula (IV), es decir las 3-(amino sustituido)-1,4-dihidrotolipomicinonas, las 3-(amino sustituido)-1,4,16,17-tetrahidrotolipomicinonas y las 3,16-di-(amino sustituido)-1,4,16,17-tetrahidrotolipomicinonas, pueden, y preferiblemente se preparan por reducción de las correspondientes 3-(amino sustituido)-tolipomicinonas, 3-(amino sustituido)-16,17-dihidrotolipomicinonas o 3,16-di-(amino sustituido)-16,17-dihidrotolipomicinonas respectivamente. El agente reductor empleado para la reducción puede ser uno cualquiera de los que se emplean comúnmente para este tipo de reacción,

25
10-2-75.

tal como el ácido L(+)-ascórbico o hidrógeno en presencia de un catalizador adecuado, tal como paladio sobre carbón vegetal o paladio sobre sulfato de bario. Se ha encontrado que la reacción se lleva a cabo más convenientemente empleando el ácido L(+)-ascórbico; esta reacción tendrá lugar normalmente en presencia de un disolvente (por ejemplo un alcohol, por ejemplo metanol o etanol) y, puesto que la temperatura de reacción no es crítica, a temperatura ambiente.

10 Los compuestos del presente invento $\overline{\text{es}}$ decir, los compuestos de fórmula (II) $\overline{\text{poseen}}$ una valiosa actividad antibiótica y, como se demostró por los datos de concentración inhibitoria mínima, son potentes agentes antibacterianos tanto frente a las bacterias Gram-positivas como frente a las bacterias Gram-negativas. Su actividad es bactericida. Los compuestos del invento pueden, por consiguiente, emplearse para combatir infecciones tanto en animales como en seres humanos. Además, los compuestos del invento son estables en las condiciones de pH reinantes en los líquidos biológicos del sistema digestivo; en particular, son estables en las condiciones de pH que existen en el tracto gástrico de animales y seres humanos. Estos contrasta con la Tolipomicina Y y la tolipomicinona, puesto que el primero, aunque es un agente antibiótico muy potente, es inesta-

25
10-2-75.

ble en presencia de ácidos, mientras que el último, aun que tiene estabilidad mejorada en condiciones ácidas, tiene una actividad antibiótica sustancialmente disminuída.

5 La estabilidad de los compuestos del inven
to en condiciones ácidas, tales como aquellos que exis-
ten en los tractos gástricos de los animales y seres hu-
manos, permite a los compuestos ser administrados por
vía oral, que es una ventaja sustancial, puesto que la
10 administración oral es la vía generalmente preferida de
administración para antibióticos. Los compuestos del pre
sente invento son también útiles como intermedios esta-
bles en la preparación de otros compuestos farmacéutica-
mente activos.

15 Así el invento consiste adicionalmente
en una composición farmacéutica que comprende un com-
puesto de fórmula (II), (III) o (IV) en mezcla con un
excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable. La
composición se formula preferiblemente para administra-
20 ción oral y puede por lo tanto estar en la forma de, por
ejemplo, una tableta, cápsula, gragea o polvo.

 El invento se ilustra adicionalmente con
referencia a los Ejemplos siguientes. Los valores Rf da-
dos en los Ejemplos se refieren al Rf de la tolipomici-
25 nona y se calculan por la fórmula $Rf(ona) = Rf \text{ del com-}$

10-2-75.

puesto /Rf de la tolipomicinona. Los espectros U.V. se determinaron en metanol y la $\lambda_{\text{máxima}}$ se da en nm en los Ejemplos, representándose el logaritmo ξ entre paréntesis. Los porcentajes son en peso.

5 Los derivados de tolipomicinona del presente invento pueden emplearse también en forma de sales de adición de ácido, es decir con HCl, ácido cítrico, ácido oxálico, que son farmacéuticamente activos. Además los compuestos de fórmula general (IV) pueden em
10 emplearse como sales de adición básicas, es decir de metales alcalinos o bases orgánicas como trietilamina.

EJEMPLO 1

Preparación de 3-bencilaminotolipomicinona (Compuesto 1)

15 500 mg de bencilamina disuelta en 5 ml de cloroformo se añadieron lentamente durante 1 hora a 1 g de tolipomicinona disuelto en 30 ml de cloroformo. A continuación se añadió 1,25 g de dióxido de manganeso. La mezcla se agitó durante 20 horas y se filtró, después de lo cual se añadieron 10 ml de una solución acu
20 sa al 5% de ácido cítrico. Se separó la fase orgánica, se extrajo con tres porciones de agua de 10 ml, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y luego el disolvente se separó por evaporación.

25 El sólido resultante se disolvió en 2 ml de acetato de etilo y se pasó a través de una columna
10-2-75.

de cromatografía que tenía un diámetro interior de 4,6 cm y una altura de 46 cm (volumen 770 ml) rellena con gel de sílice 60 Merck. La columna se eluyó con una mezcla de acetato de etilo/benceno 80/20 (v/v). Las fracciones, cada una de 10 ml, que en cromatografía de capa delgada, CCD, (sobre gel de sílice 60 Merck F 254) mostraba un componente violeta que tenía un $R_f(\text{ona}) = 1,36$ (acetato de etilo como fase móvil), se recogieron, se reunieron, se secaron y se disolvieron en 1,5 ml de acetato de etilo y se pasaron a través de una segunda columna (diámetro interno 2,4 cm, altura 37 cm, volumen 165 ml) rellena con gel de sílice 60 Merck. La columna se eluyó con una mezcla de acetato de etilo/metanol 90/10 (v/v) que contenía ácido oxálico al 1%. Las fracciones que, en CCD llevada a cabo como antes, mostraban una componente violeta que tenía $R_f(\text{ona}) = 1,36$ se recogieron y reunieron, se separó el disolvente por evaporación y el residuo se disolvió en 100 ml de cloroformo.

La solución orgánica se lavó luego con tres porciones de 20 ml de agua, se secó y se separó el disolvente por evaporación. El rendimiento fue del 68%.

El producto sólido se recristalizó a continuación tres veces en cloroformo por adición de 15 volúmenes de n-hexano. Por análisis, se encontró que el contenido de nitrógeno del producto era 3,14%, compara-

25
10-2-75.

do con un valor calculado de 3,44%.

Espectro UV: 234 (4,43); 264 (4,33);
319(4,13); 362(3,37); 535(3,28).

5 El dióxido de manganeso empleado se preparó como sigue: se disolvieron 10 g de $MnSO_4 \cdot H_2O$ en 200 ml de agua, después de lo cual se añadieron 6,2 g de $KMnO_4$. Se añadió una solución de 3 g de hidróxido de sodio en 20 ml de agua y la mezcla se calentó a 80-90°C durante 3 horas. Se recogió el sólido, se lavó con agua,
10 se filtró y secó a 120°C durante 4 horas.

Ejemplo 2

Preparación de 3,16-di-(bencilamino)-16,17-dihidrotolipomicinona (compuesto 2).

15 Se disolvieron 300 mg de tolipomicinona en 6 ml de dioxano y, mientras se agitaba la solución y se enfriaba con agua e hielo, se añadieron 0,5 ml de bencilamina. La mezcla se agitó durante 6 horas más a temperatura ambiente.

20 La solución violeta se vertió a continuación en 60 ml de cloroformo y se agitó con 60 ml de una solución acuosa al 2,5% de ferricianuro de potasio. El pH de la solución acuosa se elevó luego hasta un valor de 7 por adición de ácido clorhídrico 1 N, con agitación.

25
10-2-75.

Después de separar la capa orgánica, se ex

trajo la capa acuosa con 20 ml de cloroformo. Se reunieron las soluciones de cloroformo, se lavaron con 20 ml de agua, secaron y el cloroformo se evaporó bajo vacío.

5 Por CCD (acetato de etilo en fase móvil, gel de sílice 60 Merck F. 254) el producto mostró una sola mancha a $R_f(\text{ona}) = 1,73$.

10 La sustancia se cromatografió sobre una columna que contenía 25 g de gel de sílice 60 Merck y se eluyó con acetato de etilo para dar 280 mg del producto. Por análisis, el contenido de nitrógeno encontrado fue 4,77% comparado con un valor calculado de 4,55%.

Espectro de UV: 233(4,37); 262(4,31); 315(4,19); 377(3,87); 522(3,26).

15 El espectro de RMN (en CDCl_3 ; 60 Mc) del producto mostró la ausencia de la señal de $\text{H}(3)$ y la presencia de una señal a $\delta = 7,42$ ppm atribuible a los cinco protones aromáticos del grupo bencilo.

Ejemplo 3

20 Preparación de 3-metilaminotolipomicinona (Compuesto 3) y 3,16-di-(metilamino)-16,17-dihidrotolipomicinona (Compuesto 4)

25 A 500 mg de tolipomicinona disueltos en 5 ml de dioxano se añadieron 0,12 ml de una solución al 17,5% de metilamina en agua/dioxano (1:1 en volumen) durante un período de 30 minutos, con agitación y a una
10-2-75.

temperatura inferior a 10°C. La mezcla se agitó durante una hora más, después de lo cual se añadieron 600 mg de dióxido de manganeso. Entonces se agitó la mezcla durante una hora, después de lo cual se filtró y se añadieron 100 ml de cloroformo y 8 ml de una solución acuosa al 1% de ácido cítrico.

A continuación se separó la capa orgánica, se lavó con tres porciones de agua de 10 ml y se secó, separándose luego por evaporación el disolvente. El sólido producido se disolvió en una mezcla de benceno/acetato de etilo/metanol (10:90:1 en volumen) y se cromatografió a través de 100 volúmenes de gel de sílice 60 Merck impregnados con ácido oxálico al 1%. La elución se llevó a cabo con una mezcla de benceno/acetato de etilo/metanol (10:90:1), conteniendo el acetato de etilo ácido oxálico al 1%. Cada fracción de 10 ml se cromatografió por CCD empleando como fase móvil benceno/acetato de etilo/metanol (10:90:1). Se recogieron las fracciones que mostraban un componente violeta a $R_f(\text{ona}) = 0,86$, se reunieron y secaron para dar 110 mg de 3-metilaminotolipomicinona. Contenido de nitrógeno del producto: encontrado; 3,87%; calculado 3,97%. Espectro UV: 234(4,42); 264(4,34); 319(4,08); 362(3,80); 533(3,17).

25
10-2-75.

Se continuó la elución, empleando como

eluyente una mezcla de metanol/acetona 80/20 y las fracciones que mostraban un componente violeta pardo a $R_f(\text{ona}) = 0,54$ en CCD (las mismas condiciones que antes), se recogieron, se reunieron y se secaron, para dar 120 mg de

5 3,16-di-(metilamino)-16,17-dihidrotolipomicinona.

Espectro UV: 234(4,30); 262(4,26); 318(4,08); 373(3,97); 530(3,39).

Se repitió el experimento empleando las mismas cantidades de reaccionantes y en las mismas condiciones, excepto que se empleó cloroformo como disolvente de reacción.

10

Ejemplo 4

Preparación de 3-(2-morfolinoetilamino)-tolipomicinona (Compuesto 5) y 3,16-bis-(2-morfolinoetilamino)-16,17-

15 -dihidrotolipomicinona (Compuesto 6)

Se disolvieron 200 ml de tolipomicinona en 5 ml de cloroformo y, se añadieron durante una hora, 1 ml de una solución al 8% de N-(2-aminoetil)-morfolina en cloroformo. La solución se agitó durante 30 minutos,

20 después de lo cual se añadieron 200 ml de dióxido de manganeso. La solución se agitó durante 45 minutos más y se filtró, añadiéndose luego 30 ml de cloroformo. La solución orgánica se lavó con 4 ml de una solución acuosa al 5% de ácido cítrico y luego se lavó con tres porciones de agua de 10 ml. La fase orgánica se secó y el

25
10-2-75.

disolvente se separó por evaporación.

5 El producto se disolvió en una mezcla de acetato de etilo/cloroformo/metanol 60:37:5 en volumen y se cromatografió a través de 100 partes de gel de sílice 60 Merck y luego se eluyó con la misma mezcla de disolventes. Las fracciones que mostraban un componente violeta a $R_f(\text{ona}) = 0,58$ en CCD (gel de sílice 60 Merck F 254), empleando como eluyente una mezcla de acetato de etilo/cloroformo/metanol 60:37:5 se reunieron y el disolvente se separó por evaporación, para dar 0,120 g del compuesto 5. Contenido de nitrógeno: calculado 5,01%; encontrado 4,94%. Espectro UV: 230(4,41); 264(4,27); 318(4,10); 362(3,83); 533(3,23).

15 La columna se eluyó luego adicionalmente con una mezcla de acetato de etilo/metanol 50:50 (volumen) y las fracciones que mostraban un $R_f(\text{ona}) = 0,08$ en CCD (en las mismas condiciones que antes) se reunieron, se secaron y los disolventes se separaron por evaporación para dar 50 mg del compuesto 6.

20

Ejemplo 5

Preparación de 3-(2-hidroxietilamino)-tolipomicinona (Compuesto 7)

25 A una solución de 180 mg de tolipomicinona en 5 ml de cloroformo se añadieron 15 mg de etanolamina en 0,075 ml de cloroformo. Después de una hora de
10-2-75.

agitación, se añadieron 10 mg más de la amina. La mezcla se agitó luego durante 30 minutos, después de lo cual se lavó cinco veces con una solución acuosa de ácido cítrico al 0,5%. Se añadieron luego 5 ml de una solución acuosa al 5% de ferricianuro potásico.

La capa orgánica se secó y el disolvente se evaporó bajo vacío. El producto sólido se cromatografió en una columna de gel de sílice 60 Merck y se eluyó con acetato de etilo que contenía ácido oxálico al 1%. Las fracciones que, en CCD, (gel de sílice 60 Merck F 254), mostraban un componente violeta a $R_f(\text{ona}) = 0,64$ (acetato de etilo como fase móvil), se reunieron, se concentraron, se lavaron con agua, se secaron y el disolvente se evaporó bajo vacío.

15

Ejemplo 6

Preparación de 3- β -(N,N-dimetilamino)-propilamino-7-tolipomicinona (Compuesto 8)

A una solución de 318 mg de tolipomicinona en 5 ml de cloroformo se añadieron gradualmente durante una hora 53 mg de N,N-dimetilpropilendiamina disueltos en 0,5 ml de cloroformo, mientras se mantenía la temperatura a menos de 10°C y se agitaba la mezcla. Se continuó la agitación durante 1 hora más, añadiéndose 310 mg de dióxido de manganeso, y después de 30 minutos más de agitación, se filtró la mezcla, añadiéndose

25

10-2-75.

50 ml de cloroformo y 5 ml de una solución acuosa al 1% de ácido cítrico. Se separó la capa orgánica, se lavó tres veces, cada una con 10 ml de agua, se secó y se evaporó el disolvente. El sólido se disolvió en 1 ml de metanol y se pasó a través de una columna de gel de sílice 60 Merck, empleando como eluyente metanol/agua (80:20 en volumen).

Se recogieron las fracciones que, en CCD (gel de sílice 60 Merck F 254), mostraban un componente violeta a $R_f(\text{ona}) = 0,16$ (fase móvil acetato de etilo/piridina, 70:30 en volumen). El metanol se evaporó bajo vacío y la fase acuosa residual se extrajo varias veces con cloroformo. Los extractos orgánicos se reunieron, se secaron y luego se evaporó el disolvente, produciendo 80 mg del compuesto 8.

Espectro UV: 234(4,45); 264(4,37); 319(4,17); 362(3,89); 535(3,25).

Ejemplo 7

(a) Preparación de 16,17-dihidrotolipomicinona

Se disolvieron 300 mg de tolipomicinona en 25 ml de etanol y se hidrogenó a temperatura ambiente y a presión atmosférica en presencia de 50 mg de paladio sobre carbón vegetal. En el transcurso de una hora a 27°C se consumieron 35 ml de hidrógeno.

Luego se separó por filtración el catali-

25
10-2-75.

zador, se concentró el filtrado a un sexto de su volumen original, y se añadieron 100 ml de acetato de etilo. La solución se agitó por sacudidas a continuación durante largo tiempo con una solución al 3% de cloruro férrico (cuatro porciones, cada una de 30 ml). La fase orgánica se lavó luego dos veces con agua, se secó y el disolvente se separó por evaporación. Se obtuvo 16,17-dihidrotolipomicinona prácticamente puro que tenía un $R_f(\text{ona}) = 0,98$ (eluyente acetato de etilo) en CCD, (gel de sílice 60 Merck F 254).

5
10
(b) Preparación de 3-bencilamino-16,17-dihidrotolipomicinona (Compuesto 9).

Se disolvieron 400 mg de 16,17-dihidrotolipomicinona en 8 ml de dioxano y, mientras se enfriaba con agua e hielo, se añadió gradualmente con agitación 0,4 ml de bencilamina. La solución se agitó durante 40 minutos más con enfriamiento. Luego se añadieron 75 ml de cloroformo, seguido por 75 ml de una solución acuosa al 3% de ferricianuro de potasio. Se ajustó el pH a 7 por adición de ácido clorhídrico 0,5N.

15
20 Se separó la capa orgánica y se extrajo la capa acuosa con 30 ml de cloroformo.

Los extractos orgánicos se reunieron, se lavaron con 20 ml de agua, se secaron y el disolvente se separó por evaporación bajo vacío.

25
10-2-75.

La CCD sobre gel de sílice 60 Merck F 254, empleando como fase móvil acetato de etilo/metanol (96:4 en volumen), mostró una mancha roja a Rf(ona) = 1,32. El producto se cromatografió en 30 g de gel de sílice empleando como eluyente una mezcla de acetato de etilo/metanol (98:2 en volumen).

Se obtuvieron así 140 mg de 3-bencilamino-16,17-dihidrotolipomicinona.

Ejemplo 8

10 Preparación de 3-²-(dimetilamino)-etilamino⁷-tolipomicinona (Compuesto 10)

A una solución de 100 mg de tolipomicinona en 2,5 ml de cloroformo se añadieron gradualmente durante un período de 1 hora 12 mg de N,N-dimetiletilediamina disueltos en 0,170 ml de cloroformo, mientras se mantenía la temperatura por debajo de 10°C y manteniendo la agitación. Se continuó la agitación durante una hora más, añadiéndose 110 mg de dióxido de manganeso y, después de 30 minutos más de agitación, se filtró la mezcla.

Se añadieron a continuación 50 ml de cloroformo y 5 ml de una solución acuosa al 1% de ácido cítrico. Se separó la capa orgánica, se lavó con tres porciones de agua de 10 ml, se secó y el disolvente se separó por evaporación. El sólido producido se disolvió

25
10-2-75.

en 1 ml de metanol y se pasó a través de una columna de gel de sílice 60 Merck empleando como eluyente acetato de etilo/metanol (60:40 en volumen), conteniendo el acetato de etilo ácido oxálico al 1% p/v.

5 Se reunieron aquellas fracciones que, por CCD (gel de sílice 60 Merck F 254), mostraban un componente violeta de $R_f(\text{ona}) = 0,58$ (fase móvil acetato de etilo/metanol). El metanol se evaporó a continuación bajo vacío y la fase acuosa residual se extrajo varias
10 veces con cloroformo. Se reunieron los extractos orgánicos, se secaron y se evaporó el cloroformo. El residuo se recristalizó en cloroformo/n-hexano, produciendo 80 mg de 3-2-(dimetilamino)-etilamino7tolipomicinona.

15 Espectro UV: 234(4,40); 264(4,31); 319(4,13); 362(3,85); 530(3,20).

Ejemplo 9

Preparación de 3-4-(N-metilpiperidil)-etilamino7-tolipomicinona (Compuesto 11)

20 A una solución de 300 mg de tolipomicinona en 4 ml de cloroformo se añadieron gradualmente 200 mg de 4-aminometil-N-metilpiperidina disuelta en 2 ml de cloroformo. La solución se agitó durante 12 horas a temperatura ambiente. Mientras se mantenía la agitación, se añadieron a continuación 40 ml de cloroformo, seguido
25 por 20 ml de una solución acuosa al 3% de ferricianuro
10-2-75.

de potasio. El pH de la solución se disminuyó a 7 por adición de ácido clorhídrico 0,5N.

5 A continuación se separó la capa orgánica, se secó y se evaporó bajo vacío. Por CCD (gel de sílice 60 Merck F 254) empleando como eluyente metanol/ácido acético (9:1 en volumen), el residuo mostró una única mancha violeta a R_f (ona) = 0,31. El producto se cromatografió en una columna de gel de sílice 60 Merck y se eluyó con una mezcla de metanol/ácido acético 9:1. Se reunieron las fracciones que contenían el producto violeta y se evaporó el disolvente bajo vacío. El residuo se disolvió en cloroformo y la solución se lavó dos veces con agua, se secó y luego el cloroformo se evaporó bajo vacío.

15

Ejemplo 10

Preparación de 3-(3-hidroxi-propilamino)-tolipomicinona (Compuesto 12)

20 A una solución de 200 mg de tolipomicinona en 5 ml de cloroformo se añadió, con agitación, una solución de 70 mg de 3-aminopropanol en 1 ml de cloroformo. Después de agitación durante 1 hora, se añadieron 30 ml más de cloroformo, seguido por 15 ml de una solución acuosa al 3% de ferricianuro de potasio. El pH de la solución acuosa se ajustó entonces hasta un valor de 7 por adición de ácido clorhídrico 0,5N.

25
10-2-75.

Se separó la capa orgánica, se secó y el disolvente se evaporó bajo vacío. El producto, por CCD (gel de sílice 60 Merck F 254), mostró una mancha a $R_f(\text{ona}) = 0,33$ (eluyente acetato de etilo).

5 El residuo se cromatografió sobre gel de sílice 60 Merck empleando como eluyente acetato de etilo.

Ejemplo 11

Preparación de 3-metilamino-16,17-dihidrotolipomicinona (Compuesto 13)

10 Se añadieron 300 mg de metilamina, a temperatura reducida y mientras se mantenía la agitación, a 250 mg de 16,17-dihidrotolipomicinona disuelta en 5 ml de dioxano. Se mantuvo la agitación a temperatura ambiente durante 10 minutos. A continuación, mientras se mantenía la agitación, se añadieron 50 ml de cloroformo, seguido de 50 ml de una solución acuosa al 2% de ferri-
15 cianuro de potasio. El pH de la solución se ajustó cuidadosamente a un valor de 7 por adición de ácido clorhídrico 0,5 N.
20

A continuación se separó la fase orgánica y se extrajo la fase acuosa con 20 ml de cloroformo. Se reunió el extracto orgánico con la fase orgánica y la mezcla se secó y el disolvente se separó por evaporación bajo vacío. La CCD mostró un producto violeta a
25

10-2-75.

Rf(ona) = 1,04 (eluyente acetato de etilo/metanol, 20:1) y 16,17-dihidrotolipomicinona sin reaccionar. El producto se cromatografió en 25 g de gel de sílice 60 Merck y se eluyó con acetato de etilo. Se obtuvieron 145 mg del producto.

El espectro de RMN (en $CDCl_3$, 60 Mc) mostró ausencia de la señal de H(3).

Ejemplo 12

Preparación de 3-(4-piridil)-metilamino-tolipomicinona (Compuesto 14)

Se añadieron 900 mg de 4-piridilmetilamina durante 2 horas, con agitación, a 300 mg de tolipomicinona disuelta en 10 ml de cloroformo. Luego se añadieron 150 mg de dióxido de manganeso, agitándose la mezcla durante 10 horas más y se filtró a continuación. Se añadieron 70 ml de cloroformo y la solución se lavó con 5 ml de una solución acuosa al 5% de ácido cítrico y con tres porciones de agua de 20 ml.

La fase orgánica se secó y el disolvente se evaporó. El residuo, por CCD (gel de sílice 60 Merck F 254), empleando como eluyente acetato de etilo/benceno/metanol (70:25:15 en volumen), mostró una mancha a Rf(ona) = 0,77.

El producto se cromatografió en una columna de gel de sílice 60 Merck y se eluyó primeramente con

10-2-75.

una mezcla de acetato de etilo/benceno/metanol 88:10:2 en volumen (el acetato de etilo contenía ácido oxálico al 1% en p/v) para separar el material de partida sin reaccionar y luego con una mezcla de acetato de etilo/ben
5 ceno/metanol 70:25:15 en volumen (el acetato de etilo contenía ácido oxálico al 1% p/v) para eluir el producto deseado. Se recogieron las fracciones que contenían el producto, se concentraron a un tercio de su volumen ori
10 ginal, se mezclaron con 70 ml de cloroformo y se lavaron varias veces con porciones de 20 ml de agua.

A continuación se secó la fase orgánica y el disolvente se separó por evaporación. El residuo se disolvió en 1 ml de cloroformo y se precipitó por adición gradual, en frío, de 20 ml de n-hexano. Se obtuvie
15 ron 170 mg de 3-(4-piridil)-metilamino-tolipomicinona.

Ejemplo 13

Preparación de 3-(2-tetrahidrofuril)-metilamino-tolipomicinona (Compuesto 15)

260 mg de tetrahidrofurfurilamina disueltos
20 en 2 ml de cloroformo se añadieron gradualmente, con agitación, a 300 mg de tolipomicinona disueltos en 10 ml de cloroformo. Después de una hora, se añadieron 150 mg de dióxido de manganeso y la suspensión se agitó durante 30 minutos más, después de lo cual se filtró. A continua
25 ción se añadieron 80 ml de cloroformo y la solución se
10-2-75.

lavó con una solución acuosa al 5% de ácido cítrico y luego dos veces con agua. Se secó la fase orgánica y se evaporó el disolvente. La CCD en gel de sílice 60 Merck F 254 empleando como eluyente acetato de etilo/benceno/metanol (70:25:5 en volumen), mostró una mancha a $R_f(\text{ona}) = 0,87$.

El producto se disolvió en 2 ml de acetato de etilo y se cromatografió en una columna que contenía 35 g de gel de sílice 60 Merck, empleando como eluyente acetato de etilo que contenía ácido oxálico al 1%. Se reunieron aquellas fracciones que, por CCD, mostraron un $R_f(\text{ona}) = 0,87$, se lavó varias veces con agua, se se-
có y se evaporó el disolvente. El sólido se purificó adicionalmente por cromatografía a través de 40 g de gel de sílice 60 Merck empleando como eluyente una mezcla de acetato de etilo/benceno/acetona 49:49:5. Se reunieron las fracciones que contenían el producto, se lavaron con agua, se secaron y se evaporó el disolvente. El sólido se disolvió en 1,5 ml de cloroformo y se precipitó con 20 ml de n-hexano. Se obtuvieron 145 mg del producto, siendo el contenido de nitrógeno del producto 3,61%, comparado con un valor calculado de 3,46%.

Espectro U.V.: 234(4,43); 264(4,33);
319(4,10); 362(3,80); 535(3,19).

10-2-75.

Ejemplo 14 (Ejemplo comparativo)

Preparación de 3-ciclohexilamino-tolipomicinona

5 A 300 mg de tolipomicinona disueltos en 6 ml de dioxano se añadieron, a baja temperatura y con agi-
tación, 0,300 ml de ciclohexilamina disueltos en 6 ml
de dioxano. La solución fue entonces agitada durante 30
minutos a temperatura ambiente. Mientras se agitaba la
solución, se añadieron 60 ml de cloroformo, seguido por
10 60 ml de una solución acuosa al 2% de ferricianuro de po-
tasio. El pH de la solución se ajustó a 7 por adición
de ácido clorhídrico 0,5N.

15 La fase orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con 20 ml de cloroformo. El extracto orgánico y la fase orgánica reunidos se secó, y el disolvente se separó por evaporación bajo vacío. Por CCD (gel de sílice 60 Merck F 254), el producto mostró una mancha principal violeta a $R_f(\text{ona}) = 1,20$. El producto se cromatografió sobre 30 g de gel de sílice 60 Merck y se eluyó con acetato de etilo. Se obtuvieron 130 mg del pro-
20 ducto.

Ejemplo 15

Preparación de 3-(piperonilamino)-tolipomicinona (Com-
puesto 16)

25 150 mg de piperonilamina disueltos en 1,5 ml de cloroformo se añadieron lentamente con agitación
10-2-75.

durante 2 horas a 300 mg de tolipomicinona disueltos en 10 ml de cloroformo. El progreso de la reacción se siguió por cromatografía en capa delgada sobre gel de sílice 60 F 254 Merck, empleando como eluyente acetato de etilo/ben
5 ceno/metanol (70:25:5 en volumen). El producto tiene un $R_f(\text{ona}) = 1,20$.

Después de 3 horas de reacción, la tolipo
micinona había desaparecido de la mezcla de reacción.
Se añadieron 100 ml de cloroformo y una solución acuosa
10 al 5% de ácido cítrico y luego la fase orgánica se lavó
repetidamente con agua y se secó, después de lo cual se
secó el disolvente y se separó por evaporación. El sólido
do residual se recogió luego en 2 ml de una mezcla de
acetato de etilo (que contenía ácido oxálico al 1%)/ben
15 ceno/metanol 70:25:5 en volumen y se cromatografió em-
pleando el mismo disolvente a través de una columna de
gel de sílice 60 Merck (diámetro interior 2,4 cm, altura
9,5 cm).

Las fracciones que contenían el producto
20 deseado se reunieron y se lavaron varias veces con agua.
Después de secar, el disolvente se evaporó de la fase
orgánica, dando 115 mg de 3-(piperonilamino)-tolipomici
nona impura.

A continuación el sólido se recogió en
25 acetato de etilo y se cromatografió adicionalmente a
10-2-75.

través de una columna de gel de sílice 60 Merck (diámetro interior 16 mm, altura 50 mm) empleando como eluyente acetato de etilo que contenía ácido oxálico al 1%. Se lavaron las fracciones que contenían el compuesto 16 deseado con agua y luego se secaron, después de lo cual se recogió el residuo en 1 ml de cloroformo y se precipitó con n-hexano. Se obtuvieron 54 mg del producto puro.

Espectro UV: 235(4,49); 265(4,32); 317(4,20); 370(3,83); 530(3,23).

10

Ejemplo 16

Preparación de 3-(p-dimetilamino-bencilamino)-tolipomicinona (Compuesto 17).

210 mg de p-dimetilamino-bencilamina en 1,5 ml de cloroformo se añadieron lentamente durante un período de 2 horas a 300 mg de tolipomicinona en 5 ml de cloroformo. Se añadieron a continuación 100 mg de dióxido de manganeso y la mezcla se agitó durante 30 minutos. El sólido se separó luego por filtración y se añadió una solución acuosa al 5% de ácido cítrico al filtrado. La mezcla se lavó con agua y se secó, después de lo cual se separó el disolvente por evaporación.

20

El sólido residual se recogió en 1 ml de una mezcla de acetato de etilo (que contenía ácido oxálico al 1%)/metanol 97:3 en volumen y se cromatografió, empleando el mismo disolvente, a través de una columna

25

10-2-75.

de gel de sílice 60 Merck (diámetro interior 3 cm, altura 9 cm). Se reunieron las fracciones que fueron determinadas por cromatografía en capa delgada (CCD) en gel de sílice 60 F 254 Merck empleando como eluyente una mezcla de cloroformo/metanol 95:5 en volumen, que contenían la 3-(p-dimetilamino-bencilamino)-tolipomicinona $R_f(\text{ona}) = 0,827$, haciéndose ligeramente alcalinas por adición de bicarbonato de sodio y lavándose luego con agua. Se secó la fase orgánica y el disolvente se separó por evaporación, dando 90 mg de producto puro.

Espectro UV: 260(4,60); 320(4,22);
362(3,98); 540(3,33).

Ejemplo 17

15 Preparación de 3-(2-(4-imidazolil)etilamino)-7-tolipomicinona (Compuesto 18)

190 mg de histamina en 1,6 ml de cloroformo/metanol (2:1 en volumen) se añadieron lentamente durante un período de 1 hora a 400 mg de tolipomicinona en 10 ml de cloroformo. Se añadieron 220 mg de dióxido de manganeso, seguido, después de 15 minutos, por 70 mg más de histamina en 0,6 ml de cloroformo/metanol (2:1 en volumen). La mezcla de reacción se cromatografió en gel de sílice 60 F 254 Merck empleando como eluyente acetato de etilo/metanol (75:25 en volumen); el producto mos

25
10-2-75.

tró un $R_f(\text{ona}) = 0,46$.

Se continuó la reacción durante 4 horas, después de lo cual el dióxido de manganeso se separó por filtración. Se añadieron al filtrado 100 ml de cloroformo y 5 ml de una solución acuosa al 5% de ácido cítrico, después de lo cual la mezcla se lavó con agua y se secó y se separó por evaporación el disolvente. El residuo se recogió en 2 ml de una mezcla de acetato de etilo con ácido oxálico al 1%/metanol (75:25) y se cromatografió empleando el mismo disolvente a través de una columna de gel de sílice 60 Merck (diámetro interior 2,7 cm, altura 6,5 cm).

Se reunieron las fracciones que contenían 3-~~2~~-(4-imidazolil)-etilamino~~7~~-tolipomicinona, se evaporaron a un cuarto de su volumen inicial, se recogieron en 100 ml de cloroformo, se lavaron con agua que contenía algunas gotas de hidróxido de sodio 1N y luego con agua solamente, y se secaron; el disolvente se separó luego por evaporación. El residuo se disolvió en 1,5 ml de cloroformo y a continuación se reprecipitó con 30 ml de n-hexano. Se obtuvieron 205 mg de producto puro.

Espectro UV: 233(4,51); 264(4,36);
319(4,16); 364(3,89); 530(3,24).

10-2-75.

Ejemplo 18

Preparación de 3- γ -(4-metilpiperazin-1-il)-propilamino- γ -tolipomicinona (Compuesto 19)

5 Se añadieron con agitación durante un período de 90 minutos 428 mg de 1-(3-aminopropil)-4-metilpiperazina en 3 ml de cloroformo a 400 mg de tolipomicinona en 3 ml de cloroformo. A continuación se añadieron 200 mg de dióxido de manganeso y la reacción se continuó durante 30 minutos. Después de este tiempo, la solución se filtró, se añadieron 100 ml de cloroformo y la mezcla se agitó con 2 ml de ácido cítrico acuoso al 5%. Se añadió un poco de acetato de sodio a la fase acuosa con el fin de facilitar la extracción del compuesto 19 deseado por el cloroformo. La fase orgánica se lavó 3 veces con agua, se secó y el disolvente se separó por evaporación.

10 El sólido residual se recogió en 1 ml de acetona/metanol (25:75 en volumen) que contenía 1% de ácido oxálico y se cromatografió a través de una columna de gel de sílice 60 Merck (diámetro interior 2,4 cm, altura 6,2 cm) empleando como eluyente el mismo disolvente. Se reunieron las fracciones que demostraron por CCD en gel de sílice 60 F 254 Merck (eluyente: una mezcla de cloroformo y metanol 90:10 en volumen), contener el compuesto 19 deseado [R_f (ona) = 0,84], se secaron,

25
10-2-75.

se recogieron en cloroformo y se lavaron con agua. La fase orgánica se secó luego y el disolvente se separó por evaporación bajo vacío. El residuo se recogió en 2 ml de tolueno y se reprecipitó con 30 ml de n-hexano. Se obtu
5 vieron 65 de 3- γ -(4-metilpiperazin-1-il)-propilami-
no-7-tolipomicinona.

Espectro UV: 228(4,33); 267(4,24);
316(4,07); 365(3,79); 535(3,15).

Ejemplo 19

10 Preparación de 3-(2-tenilamino)-tolipomicinona (Com-
puesto 20)

260 mg de 2-tenilamina en 1,3 ml de cloro
formo se añadieron, con agitación, durante un período de
2 horas a 400 mg de tolipomicinona en 4 ml de cloroformo.
15 A continuación se añadieron 150 mg de dióxido de
manganeso y, después de dejar reaccionar la mezcla du-
rante 30 minutos, se separó por filtración el dióxido
de manganeso.

Se añadieron 100 ml de cloroformo al filtra
do y la solución se lavó con una mezcla de 20 ml de agua
y 5 ml de una solución acuosa al 5% en peso de ácido cí
trico y luego se lavó tres veces solamente con agua.
Después, la solución se secó y el disolvente se separó
por evaporación. El sólido así obtenido se cromatogra-
fió a través de una columna de gel de sílice 60 Merck
25

10-2-75.

(diámetro interior 2,2 cm, altura 10 cm) empleando como eluyente acetato de etilo que contenía ácido oxálico al 1%. Las fracciones que mostraron por CCD (eluida con acetato de etilo) contener 3-(2-tenilamino)-tolipomicinona $\overline{Rf}(ona) = 1,077$ se lavaron con agua, se secaron y el disolvente se separó por evaporación.

El sólido así obtenido se recogió en 2 ml de una mezcla de acetona y agua 50:50 (en volumen) y se cromatografió a través de una columna de gel de sílice silanizada 60 Merck (diámetro interior 3 cm, altura 5 cm) empleando como eluyente la misma solución. Se reunieron las fracciones que contenían el 3-derivado y se evaporó la acetona. La solución se recogió luego en cloroformo, se lavó con agua, se secó y se evaporó el disolvente. El sólido así obtenido se recogió en 1 ml de cloroformo, del cual se reprecipitó por adición de n-hexano. Se obtuvieron 120 mg del compuesto 20 puro.

Espectro UV: 233(4,52); 263(4,35); 317(4,18); 370(3,88); 530(3,23).

20

Ejemplo 20

Preparación de 3-(β -imidazolid-2-ona-1-il-etilamino)-tolipomicinona (Compuesto 21)

185 mg de 1-(β -aminoetil)-2-imidazolidona en 3 ml de cloroformo se añadieron, con agitación, durante un período de 1,5 horas a 300 mg de tolipomicinona

25
10-2-75.

en 5 ml de cloroformo. A continuación se añadieron 120 mg de dióxido de manganeso a la solución. Después de agitar la mezcla durante 30 minutos, se añadieron 100 ml de cloroformo y el dióxido de manganeso se separó por filtración. Se añadieron 2 ml de ácido cítrico acuoso al 5%, se lavó la fase orgánica con agua y se secó sobre sulfato de sodio anhidro; a continuación se separó el disolvente por evaporación bajo vacío. El sólido así obtenido se recogió en 1,5 ml de cloroformo y la solución se extendió sobre una placa de 20 x 20 cm que soportaba una capa de 2 mm de grosor de gel de sílice 60 F 254 Merck, y se cromatografió empleando como eluyente cloroformo/metanol (90:10 en volumen). Las fracciones se separaron luego y, después de quitar por raspado la gel de sílice, se recogió la fracción que tenía un $R_f(\text{ona}) = 0,55$, que correspondía a 3-(β -imidazolid-2-ona-1-il-etilamino)-tolipomicinona.

La gel de sílice quitada por raspado se trató luego dos veces con 20 ml de metanol/agua (9:1 en volumen), con lo cual el compuesto 21 deseado se disolvió en metanol acuoso. Esta solución se concentró a un volumen de 7-8 ml, se recogió en 100 ml de cloroformo y se lavó con agua. La fase de cloroformo se secó sobre sulfato de sodio anhidro y luego se separó por evaporación el cloroformo. El sólido residual se disolvió en

10-2-75.

1,5 ml de cloroformo, del cual se reprecipitó con 30 ml de n-hexano. Se obtuvieron 150 mg de 3-(β -imidazolid-2-ona-1-il-etilamino)-tolipomicinona.

Espectro UV: 234(4,35); 262(4,26);

5 316(4,14); 370(3,84); 531(3,19).

Ejemplo 21

Preparación de 3- β -(p-hidroxifenil)-etilamino-7-tolipomicinona (Compuesto 22)

200 mg de tiramina en 2,5 ml de etanol se
10 añadieron durante un período de 1 hora a 400 mg de toli-
pomicinona en 5 ml de cloroformo. Después de agitar la
mezcla durante 30 minutos, se añadieron 100 ml de cloro-
formo. La solución se lavó luego repetidamente con agua
que contenía ácido cítrico de 0,5% y luego se trató sola-
15 mente con agua hasta alcanzar un pH de 7.

A continuación se secó la fase de cloro-
formo y se separó por evaporación el cloroformo. El só-
lido se recogió en 2 ml de una mezcla de benceno/meta-
nol/acetato de etilo + ácido oxálico al 0,5% (10:1:90
20 en volumen) y se cromatografió en una columna de gel de
sílice 60 Merck (diámetro interior 2,8 cm, altura 10 cm)
empleando como eluyente la misma mezcla. Las fracciones
que se determinaron por CCD en gel de sílice 60 F 254
Merck (eluidas con benceno/metanol/acetato de etilo,
25 10:1:90 en volumen) mostrando una mancha a $R_f(\text{ona}) = 0,9$,

10-2-75.

se mezclaron con 200 ml de benceno y se lavó la solución con agua y se secó. El benceno se separó luego por evaporación. El sólido residual se disolvió en 1,2 ml de acetona y se añadieron 0,7 ml de agua. Esta solución se cromatografió a través de una columna (diámetro interior 2,8 cm, altura 4 cm) rellena con gel de sílice silanizado 60 Merck empleando como eluyente acetato/agua (60:40 en volumen). Prácticamente el total del compuesto 22 deseado permaneció en la parte superior de la columna, mientras se eluyeron las impurezas. Después de desechar los productos contaminantes, la 3- β -(p-hidroxifenil)-etilamino-7-tolipomicinona se eluyó con una mezcla de acetona y acetato de etilo 80:20 (en volumen).

Las fracciones que contenían el compuesto deseado se reunieron y a continuación se evaporó el disolvente prácticamente hasta sequedad; el residuo se recogió en cloroformo y se lavó con agua. La fase de cloroformo se secó a continuación y el cloroformo se separó por evaporación. El sólido residual se recogió en 1 ml de cloroformo y se reprecipitó con n-hexano. Se obtuvieron 85 mg de 3- β -(p-hidroxifenil)-etilamino-7-tolipomicinona.

Espectro UV: 225(4,52); 266(4,37);
318(4,15); 365(3,88); 535(3,24).

24
10-2-75.

Ejemplo 22

Preparación de 3-(4-hidroxi-3-metoxibencilamino)-tolipomicinona (Compuesto 23)

2,5 ml de una solución al 30% de 4-hidroxi-
5 -3-metoxi-bencilamina se añadieron gradualmente durante
un período de 1,5 horas a 360 mg de tolipomicinona en 3
ml de dioxano. La mezcla de reacción se cromatografió
(capa: gel de sílice 60 F 254 Merck, eluyente: cloroformo/
10 mo/metanol/acetato de etilo, 20:2,5:2,5 en volumen). El
compuesto 23 deseado tenía un $R_f(\text{ona}) = 0,75$. Después de
2 horas de reacción, se añadieron 100 ml de cloroformo,
2 ml de ácido cítrico acuoso al 5% y 20 ml de agua. A con
15 tinuación se lavó la fase de cloroformo con agua y se
secó, después de lo cual el cloroformo se separó por eva
poración. El sólido se recogió en 2 ml de cloroformo, se
cromatografió en una capa de 2 mm de espesor de gel de
sílice 60 Merck y se eluyó con una mezcla de cloroformo/
metanol 24:1 (en volumen).

La mancha violeta correspondiente al com-
20 puesto 23 deseado se separó por raspado, se puso en sus
pensión en 20 ml de una mezcla de metanol y agua 90:10
en volumen y se agitó durante 15 minutos. Después de
filtración, el gel de sílice se lavó otra vez con 20 ml
de la misma mezcla.

25
10-2-75.

Los filtrados reunidos se redujeron a un

pequeño volumen y luego se extrajeron con 100 ml de cloroformo. La fase de cloroformo se lavó con agua, se secó y se concentró hasta un volumen de 2 ml. A continuación se precipitó 3-(4-hidroxi-3-metoxibencilamino)-tolipomicinona con 30 ml de n-hexano; este compuesto se obtuvo en una cantidad de 90 mg.

Espectro UV: 230(4,54); 271(4,37);
318(4,23); 522(3,27).

Ejemplo 23

10. Preparación de 3- β -(2-piridil)-etilamino-7-tolipomicinona (Compuesto 24).

15 190 mg de 2-(2-aminoetil)-piridina en 2 ml de cloroformo se añadieron, con agitación, a temperatura ambiente durante 1 hora a 220 mg de tolipomicinona en 7 ml de cloroformo. Después de agitar durante 30 minutos, se añadieron 100 mg de dióxido de manganeso. La mezcla se dejó reaccionar durante 20 minutos, después de lo cual el dióxido de manganeso se separó por filtración y se añadieron 100 ml de cloroformo al filtrado. Luego la solución se lavó con 20 ml de agua que contenía 0,5 g de ácido cítrico. La fase orgánica se secó y el disolvente se separó por evaporación.

25 El sólido así obtenido se cromatografió sobre gel de sílice 60 F 254 Merck (capa: 20 x 20 cm, 2 ml de espesor) empleando como eluyente cloroformo/meta-
10-2-75.

nol (90:10 en volumen).

5 El compuesto 24 deseado se quitó por raspado de la placa y el gel de sílice que contenía se lavó varias veces con una mezcla de metanol y agua 90:10 (en volumen). El disolvente se evaporó luego y el residuo se recogió en 100 ml de cloroformo y se lavó con agua y se secó; el cloroformo se separó luego por evaporación.

10 El sólido residual se recogió en 4 ml de una mezcla de agua/acetona/acetato de etilo (15:14:1, en volumen) y se cromatografió en una columna (diámetro interior 2,8 cm, altura 5 cm) de gel de sílice silanizado 60 Merck, empleando como eluyente la mezcla agua/acetona/acetato de etilo.

15 Las fracciones que demostraron por CCD sobre gel de sílice 60 F 254 Merck (eluyente: cloroformo/acetona, 20:10 en volumen) contener el compuesto 24 deseado $R_f(\text{ona}) = 0,467$ se evaporaron parcialmente y luego se recogieron en cloroformo, se lavaron con agua, secaron, redujeron a un volumen de 1-2 ml y luego el
20 compuesto 24 deseado se precipitó por adición de 30 ml de n-hexano.

Se obtuvieron 50 mg de 3- β -(2-piridil)-etilamino-tolipomicinona.

25 Espectro UV: = 233(4,50); 261(4,41);

10-2-75.

317(4,16); 370(3,88); 533(3,22).

Ejemplo 24

Preparación de 3-(3-piridilmetilamino)-tolipomicinona
(Compuesto 25)

5 270 mg de 3-picolilamina en 2 ml de cloro-
formo se añadieron, con agitación, a temperatura ambien-
te durante 1,5 horas, a 300 mg de tolipomicinona en 10
ml de cloroformo. Después de dejar reaccionar la mezcla
10 durante 2 horas, se añadieron 150 mg de dióxido de man-
ganeso y la solución se agitó durante 30 minutos más.
El curso de la reacción se siguió por CCD en gel de sí-
lice 60 F 254 Merck, eluyente cloroformo/metanol (25:5
en volumen); el compuesto 25 deseado tiene un Rf(ona) =
0,79.

15 A continuación se separó por filtración
el dióxido de manganeso y la solución se lavó con ácido
cítrico acuoso al 5% y agua y luego se secó; el disol-
vente se separó luego por evaporación. El sólido resi-
dual se recogió en 2 ml de una mezcla de cloroformo/ace-
20 tato de etilo (que contenía ácido oxálico al 0,5%)/meta-
nol (15:13:2 en volumen) y se cromatografió a través de
una columna de gel de sílice 60 Merck (diámetro inte-
rior 2,8 cm, altura 7,5 cm), empleándose como eluyente
la mezcla de disolvente inicial. La 3-(3-piridilmetila-
25 mino)-tolipomicinona se absorbió en la parte superior

10-2-75.

de la columna y se eluyó con etanol en una fracción úni
ca. El etanol se separó por evaporación y el residuo só
lido se recogió en cloroformo y se lavó con agua. A con
tinuación se secó la fase orgánica y luego se separó
5 por evaporación el cloroformo. El residuo se recogió en
2 ml de cloroformo, del que se reprecipitó con n-hexano.
Se obtuvieron 90 mg de 3-(3-piridilmetilamino)-tolipomi
cinona.

Espectro UV: 261(4,55); 317(4,23);
10 360(3,90); 525(3,23).

Ejemplo 25

Preparación de 3-(β-piperidinoetilamino)-tolipomicino- na (Compuesto 26)

15 154 mg de N-(2-aminoetil)-piperidina se
añadieron lentamente, con agitación, durante 1,25 horas
a 300 mg de tolipomicinona en 13 ml de cloroformo. Des-
pués de añadir la amina, se agitó la mezcla durante 30
minutos más, después de lo cual se añadieron 160 mg de
dióxido de manganeso y la agitación se continuó durante
20 20 minutos más. La mezcla de reacción se sometió a cro-
matografía en gel de sílice 60 F 254 Merck, eluyente
acetato de etilo/acetona (15:15 en volumen); el compues
to 26 deseado tiene un Rf(ona) = 0,36.

A continuación se separó por filtración el
25 dióxido de manganeso y se añadieron 100 ml de cloroformo
10-2-75.

al filtrado. La solución se lavó luego una vez con 20 ml de agua que contenía 3 ml de una solución acuosa al 5% de ácido cítrico y luego varias veces solamente con agua. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio an
5 hidro y luego se separó por evaporación el disolvente.

El residuo sólido se recogió con 2 ml de una mezcla de acetato de etilo/acetona/metanol (200:175:25 en volumen) y se cromatografió en una columna de gel de sílice 60 Merck empleando como eluyente una mezcla de acetato de etilo (que contenía ácido oxálico al 1% p/v)
10 /acetona/metanol. Se reunieron las fracciones que contenían el compuesto 26, teniendo un $R_f(\text{ona}) = 0,36$, se se paró por evaporación parcial el disolvente bajo vacío y luego, después de añadir cloroformo, la fase orgánica
15 se lavó con agua hasta que tuviera un pH de 7. La fase orgánica se secó entonces y el disolvente se separó por evaporación. El residuo se recogió en 1 ml de cloroformo y se precipitaron 35 mg de 3-(β -piperidinoetilamino)-
-tolipomicinona por adición de 30 ml de n-hexano.

20

Ejemplo 26

Preparación de 3/ β -(5-nitro-pirid-2-il)-aminoetilamino7-
-tolipomicinona (Compuesto 27)

25

424 mg de 2-(2-aminoetilamino)-5-nitro-pi
ridina en 3 ml de una mezcla de metanol y cloroformo 1:2
en volumen se añadieron, con agitación, durante un perío

10-2-75.

do de 1,5 horas a 300 mg de tolipomicinona en una mezcla de 5 ml de cloroformo y 1 ml de metanol. A continuación se introdujeron 100 mg de dióxido de manganeso y se continuó la agitación durante 20 minutos más. La mezcla de reacción se cromatografió sobre gel de sílice 60 F 254 Merck (eluyente acetato de etilo/metanol, 24:1 en volumen). El compuesto 27 deseado tiene un $R_f(\text{ona}) = 1,27$. A continuación se separó por filtración el dióxido de manganeso y se añadieron 100 ml de cloroformo al filtrado. Luego se lavó la fase orgánica, primero con 2 ml de una solución acuosa al 5% de ácido cítrico y 20 ml de agua, y luego solamente con agua.

Se secó la fase de cloroformo y el cloroformo se separó por evaporación bajo vacío. El residuo sólido se cromatografió en una columna de gel de sílice 60 Merck (diámetro interior 2,8 cm, altura 7 cm), empleando como eluyente acetato de etilo (que contenía ácido oxálico al 1%)/benceno/metanol (18:6:1 en volumen).

Se lavaron con agua las fracciones que contenían el compuesto 27 deseado \sphericalangle mostrado por CCD, $R_f(\text{ona}) = 1,277$, se secaron y el disolvente se separó por evaporación. El residuo sólido se cromatografió adicionalmente a través de una columna de gel de sílice silanizado, empleando como eluyente una mezcla de agua

25
10-2-75.

y acetona (60:80 en volumen).

Se concentraron las fracciones que contenían el compuesto 27 deseado hasta un pequeño volumen y se añadieron 100 ml de cloroformo; la solución se lavó con agua y luego se secó. El cloroformo se separó por evaporación. El sólido resultante se recogió en 1 ml de cloroformo, del que se precipitaron con n-hexano 120 mg de 3- β -(5-nitropirid-2-il)-aminoetilamino-7-tolipomicinona.

10 Espectro UV: 267(4,41); 357(4,37);
529(3,27).

El compuesto era prácticamente insoluble en agua.

Ejemplo 27

15 (A) Preparación de 2-aminometil-N-metilpirrol

Se añadieron 30 ml de cloruro de tionilo a 10 g de ácido N-metil-pirrol-2-carboxílico. La mezcla se llevó a reflujo durante 2 horas, después de lo cual el cloruro de tionilo se separó por evaporación bajo vacío. El aceite residual se destiló en atmósfera de nitrógeno a 20 mm de Hg y dió, a 105-106°C, 8,5 g de cloruro del ácido N-metil-pirrol-2-carboxílico. Este se disolvió en éter etílico y se pasó una corriente de amoníaco gaseoso anhidro a través de la solución hasta que cesó la precipitación del cloruro de amonio. El sólido

20
25
10-2-75.

se separó por filtración y el disolvente se evaporó bajo vacío del filtrado.

Se obtuvieron 6,3 g de la amida del ácido N-metil-pirrol-2-carboxílico. Esta se mezcló con una cantidad igual de pentóxido de fósforo y la mezcla se calentó en un matraz bajo vacío. Se obtuvieron 5 g de nitrilo puro (banda de I.R. a 2210 cm^{-1}). Este se disolvió en 20 ml de éter anhidro y la solución se añadió gota a gota durante un período de 1 hora a 0°C , con agitación, a una suspensión de 2,5 g de hidruro de litio y aluminio en 100 ml de éter anhidro. La mezcla se mantuvo entonces a temperatura ambiente durante 18 horas, después de lo cual se llevó a reflujo durante 2 horas. La reacción se detuvo entonces y se añadieron 2,2 ml de agua a la mezcla, seguido de 1,6 ml de una solución acuosa al 20% de hidróxido de sodio y finalmente 7 ml de agua. El sólido se separó por filtración y el disolvente se evaporó de la solución heterénea. El aceite residual se destiló, dando 3,8 g de 2-aminometil-N-metil-pirrol, punto de ebullición $95^{\circ}\text{C}/18\text{ mm de Hg}$.

B) Preparación de 3(N-metilpirrol-2-il-metilamino)-tolipomicinona (Compuesto 28)

140 mg de 2-aminometil-N-metil-pirrol en 1,5 ml de cloroformo se añadieron a 300 mg de tolipomicinona en 3 ml de cloroformo. Después de 1 hora, se añ

25
10-2-75.

dieron 150 mg de dióxido de manganeso a la mezcla de reacción. El curso de la reacción se siguió por cromatografía en capa delgada en gel de sílice 60 F 254 Merck, empleando como eluyente acetato de etilo el compuesto 5 28 tiene una $R_f(\text{ona}) = 1,27$. Después de aproximadamente 2 horas, se completó la reacción y el dióxido de manganeso se separó por filtración. A continuación se añadieron 100 ml de cloroformo y la solución se lavó con agua que contenía ácido cítrico hasta adquirir un pH de 7. 10 El disolvente se separó entonces por evaporación bajo vacío y el residuo sólido se hizo pasar a través de una columna (diámetro interior 2 cm, altura 8,5 cm) de gel de sílice silanizado empleando como eluyente agua/acetona/acetato de etilo (14:16:1 en volumen). Se reunieron 15 las fracciones que contenían el compuesto 28, se añadió dos veces el volumen de cloroformo y la solución se lavó luego con agua. La solución lavada se secó y el cloroformo se separó por evaporación, dando 84 mg de 3-(N-metilpirrol-2-il-metilamino)-tolipomicinona.

20

Ejemplo 28

(A) Preparación de 2-aminometil-N-metil-pirrolidina

6 g de 2-aminometil-N-metil-pirrol se añadieron a una suspensión de 2 g de dióxido de platino en 150 ml de ácido acético. La mezcla se agitó a continuación bajo una atmósfera de hidrógeno durante 5 horas pa 25
10-2-75.

ra reducir el núcleo de pirrol. El ácido acético se separó luego por evaporación bajo vacío, el residuo se disolvió en metanol y la acidez residual se neutralizó con metóxido de sodio. El sólido precipitado se separó
5 luego por filtración y el disolvente se evaporó de la solución metanólica. El aceite residual se destiló, dan-
do 5 g de 2-aminometil-N-metil-pirrolidina pura (punto de fusión = 98-100°C/18 mm de Hg).

10 (B) Preparación de 3-(N-metilpirrolidin-2-il-metilamino)-
-tolipomicinona (Compuesto 29)

1,5 g de 2-aminometil-N-metil-pirrolidina en 1,5 ml de acetonitrilo se añadieron, con agitación, a 900 mg de tolipomicinona en 5 ml de acetonitrilo. La mezcla se agitó durante 2 horas, después de lo cual se
15 añadieron 500 mg de dióxido de manganeso. Después de 10 minutos, el dióxido de manganeso se separó por filtra-
ción y se añadieron 100 ml de cloroformo al filtrado. A continuación la mezcla se lavó con agua pura y con agua
que contenía ácido cítrico al 5%, después de lo cual la
20 solución se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se separó luego por evaporación bajo vacío. El sólido residual se cromatografió a través de una colum-
na de gel de sílice 60 Merck (diámetro interior 3 cm, al-
tura 10 cm) empleando dos disolventes diferentes. El pri-
25 mero consistía en cloroformo/acetato de etilo (que con-
10-2-75.

tenía ácido oxálico al 1%)/metanol en una proporción en volumen de 40:5:5; este eluyó la tolipomicinona residual y algunas impurezas. El segundo disolvente, consistente solamente en metanol, eluyó el compuesto 29. Las fracciones que contenían el compuesto 29 $\overline{Rf}(ona) = 0,19$ por CCD con gel de sílice 60 F 254 Merck, eluyente cloroformo/acetato de etilo/metanol, relación en volumen 40:5:5 se reunieron y lavaron con agua a un pH de 7. Las fracciones combinadas se secaron luego, después de lo cual el disolvente se separó por evaporación bajo vacío. El residuo sólido se disolvió en 1,5 ml de cloroformo y se reprecipitó con n-hexano, dando 130 mg de 3-(N-metilpirrolidin-2-il-metilamino)-tolipomicinona pura.

15

Ejemplo 29

(A) Preparación de aminometilpirazina

22 mg de pirazinamida y 22 g de pentóxido de fósforo se mezclaron y calentaron bajo vacío, dando 7 g de cianopirazina (punto de ebullición 92-94°C/18 mm de Hg, banda I.R. a 2240 cm^{-1}). Esta cianopirazina se disolvió en 30 ml de éter anhidro y la solución se añadió a una suspensión de 3.040 g de hidruro de litio y aluminio en 100 ml de éter anhidro, con agitación, a temperatura ambiente. Se continuó la agitación durante 18 horas, después de lo cual la mezcla se llevó a reflu

25
10-2-75.

jo durante 3 horas. La reacción se detuvo por enfriamiento de la mezcla en un baño de hielo y se añadió sucesivamente 3,2 ml de agua, 2,4 ml de hidróxido de sodio acuoso al 20% y 11 ml de agua. El sólido que precipitó se separó por filtración y el éter se evaporó bajo vacío, del filtrado. El aceite residual se destiló, dando 1,5 g de aminometilpirazina (punto de ebullición 97-99°C/18 mm de Hg).

5
10 (B) Preparación de 3-(pirazinil-metilamino)-tolipomicinona (Compuesto 30)

560 mg de aminometilpirazina en 3 ml de cloroformo se añadieron lentamente, con agitación, a 500 mg de tolipomicinona en 3,5 ml de cloroformo, a temperatura ambiente. El curso de la reacción se siguió por CCD (gel de sílice 60 F 254 Merck, eluyente acetato de etilo/metanol, relación en volumen 23,5:1,5). El Rf(ona) del compuesto 30 es 0,78. Después de 2 horas, se añadieron 300 mg de dióxido de manganeso a la mezcla de reacción y luego se separaron por filtración, después de 10 minutos. La fase de cloroformo se lavó luego con agua y ácido cítrico, después de lo cual se secó sobre sulfato de sodio anhidro y el cloroformo se separó por evaporación. El sólido residual se cromatografió en una columna de gel de sílice 60 Merck empleando como eluyente acetato de etilo (que contenía ácido oxálico

25
10-2-75.

al 0,5%)/metanol en una relación en volumen de 23,5:1,5 (diámetro interior de la columna 3 cm, altura 12 cm). Se reunieron las fracciones que contenían el compuesto 30 y se evaporó de las mismas una parte del disolvente. A
5 continuación se añadieron 100 ml de cloroformo, y la solución de cloroformo se lavó con agua. La solución de cloroformo lavada se secó luego y el cloroformo se separó por evaporación. El sólido residual se disolvió en
10 1,5 ml de cloroformo, del que se precipitaron con n-hexano 110 mg de 3-(pirazinil-metilamino)-tolipomicinona im pura.

Ejemplo 30

Preparación de 3- β -(1,2,4-triazol-1-il)etilamino-7-tolipomicinona (Compuesto 31)

15 600 mg de 1-(β -aminoetil)-1,2,4-triazol
[obtenido por el método de Ainsworth and Jones, J. Am. Chem. Soc., 77, 621-624 (1955)] en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo/metanol 2:1 en volumen se añadieron a una solución de 300 mg de tolipomicinona en 3 ml de acetonitrilo. Después de 12 horas, se añadieron 300 mg de dióxido de manganeso a la mezcla de reacción, dejándola
20 permanecer durante 30 minutos y separándola luego por filtración. Se añadieron 100 ml de cloroformo al filtrado, que se lavó con agua. La fase orgánica se secó y los
25 disolventes se separaron por evaporación. El sólido se

10-2-75.

recogió en 2 ml de cloroformo y se cromatografió en una capa de gel de sílice 60 F 254 Merck, espesor 2 mm, empleando como eluyente cloroformo/metanol (23:2 en volumen). Se obtuvieron 45 mg de 3- β -(1,2,4-triazol-1-il)-etilamino-7-tolipomicinona $R_f(ona) = 0,58$ impura.

Ejemplo 31

Preparación de 3- γ -(1,2,4-triazol-1-il)-propilamino-7-tolipomicinona (Compuesto 32)

530 mg de 1-(γ -aminopropil)-1,2,4-triazol γ obtenido por el método de Ainsworth and Jones, J. Am. Chem. Soc., 77, 621-624 (1955) en 2 ml de metanol y 0,1 ml de trietilamina se añadieron lentamente a 400 mg de tolipomicinona en 6 ml de acetonitrilo. El curso de la reacción se siguió por CCD en una capa de gel de sílice 60 F 254 Merck, eluyente cloroformo/metanol en una relación en volumen de 23:2. El $R_f(ona)$ del compuesto 32 es 0,48.

Después de 12 horas, se añadieron 400 mg de dióxido de manganeso y se mantuvieron en contacto con la mezcla de reacción durante 30 minutos, después de lo cual se separó por filtración. El filtrado se lavó con agua y ácido cítrico, y se secó sobre sulfato de sodio anhidro; los disolventes se separaron luego por evaporación. El sólido residual se pasó a través de una columna de cromatografía de gel de sílice 60 Merck (diámetro

25
10-2-75.

interior 2,4 cm, altura 15 cm) empleando como eluyente acetato de etilo (que contenía ácido oxálico al 1%)/metanol (23:2 en volumen). Se reunieron las fracciones que contenían el compuesto 32 y, después de añadir 100 ml de cloroformo, se lavaron con agua. La fase orgánica se secó y los disolventes se separaron por evaporación bajo vacío. El sólido se recogió en cloroformo, del que se reprecipitaron con n-hexano 30 mg de 3- γ -(1,2,4-triazol-1-il)-propilamino- γ -tolipomicinona esencialmente pura.

Ejemplo 32

Preparación de 3- γ -(1,2,3,4-tetrazol-1-il)-propilamino- γ -tolipomicinona (Compuesto 33)

200 mg de 1-(γ -aminopropil)-1,2,3,4-tetrazol γ producido por el método de Ainsworth and Jones, J. Am. Chem. Soc., 77, 621-624 (1955) en una mezcla de acetonitrilo y metanol (2:1 en volumen) y 2 gotas de trietilamina se añadieron a 300 mg de tolipomicinona disueltos en 4 ml de acetonitrilo. La reacción se detuvo después de 17 horas. El Rf(ona) del compuesto 33 fue de 0,71 (CCD en gel de sílice 60 F 254 Merck, eluyente acetato de etilo/metanol, 23:2 en volumen).

Se añadieron 100 ml de cloroformo a la mezcla, que se lavó luego con agua. La fase de cloroformo se secó sobre sulfato de sodio anhidro y luego se se

10-2-75.

Pararon los disolventes por evaporación. El sólido residual se cromatografió a través de una columna de gel de sílice (diámetro interior 2,4 cm, altura 20 cm) empleando como eluyente acetato de etilo (que contenía ácido oxálico al 1%)/metanol en una relación en volumen de 23,5:1,5. Se reunieron las fracciones que contenían el compuesto 33 y después de añadir 100 ml de cloroformo, se lavaron con agua. La fase orgánica se secó y luego el disolvente se separó por evaporación. El sólido residual se disolvió en 1,5 ml de cloroformo y se precipitó con n-hexano. Se obtuvieron 60 mg de 3- γ -(1,2,3,4-tetrazol-1-il)-propilamino- γ -tolipomicinona impura.

Ejemplo 33

15 Preparación de 3-(N-metilpiperid-3-il-metilamino)-tolipomicinona (Compuesto 34)

210 mg de N-metil-3-aminometil-piperidina γ obtenida por el método de Villyams, Dmitriev, Dokl. Rossiisk and Sel'Skokhoz, Akad. 99, 553-7 (1964) γ disueltos en 2,5 ml de cloroformo se añadieron a una solución de 300 mg de tolipomicinona en 2 ml de cloroformo. El curso de la reacción se siguió por CCD en una placa de gel de sílice 60 F 254 Merck empleando como eluyente una mezcla de cloroformo y metanol en una relación en volumen de 27:4. El Rf(ona) del compuesto 34 era 0,44.

25
10-2-75.

Después de 2 horas, se añadieron 150 mg de dióxido de manganeso y la mezcla se dejó reaccionar durante 30 minutos. El sólido se separó luego por filtración y el filtrado se lavó con agua y ácido cítrico.

5 La fase orgánica se secó y los disolventes se separaron por evaporación.

El sólido residual se cromatografió en una columna de gel de sílice 60 Merck (diámetro interior 2,4 cm, altura 12,5 cm) empleando como disolvente y eluente cloroformo/metanol (que contenía ácido oxálico al 0,2%) en una relación en volumen de 87,5:12,5. Se reunieron las fracciones que contenían el compuesto 34, se lavaron con agua y secaron separándose luego por evaporación el disolvente. El sólido residual se recogió en 1 ml de cloroformo, del cual se reprecipitó con n-hexano. Se obtuvieron 100 mg de 3-(N-metilpiperid-3-il-metilamino)-tolipomicinona.

Ejemplo 34

20 Preparación de 3-(pirid-2-il-metilamino)-tolipomicinona (Compuesto 35)

25 270 mg de 2-aminometilpiridina en 1 ml de cloroformo se añadieron lentamente a 400 mg de tolipomicinona en 4 ml de cloroformo. El curso de la reacción se siguió por cromatografía en una capa de gel de sílice 60 F 254 Merck empleando como eluyente cloroformo/me
10-2-75.

tanol en una relación en volumen de 32:3. El Rf(ona) del compuesto 35 era 0,78. Después de 1 hora, se añadieron 400 mg de dióxido de manganeso y la mezcla se agitó durante 30 minutos. Luego el dióxido de manganeso se se
5 paró por filtración. La fase de cloroformo se lavó con agua y ácido cítrico y luego se secó, después de lo cual el cloroformo se separó por evaporación bajo vacío. El sólido obtenido se recogió en 2 ml de cloroformo y se purificó en una placa de gel de sílice 60 F 254 Merck,
10 de 2 mm de espesor, empleando como eluyente acetato de etilo. Se eluyó el compuesto 35 del gel de sílice con metanol, se separó el sólido por filtración, y el disolvente se evaporó de la solución orgánica. El sólido residual se recogió en 1 ml de cloroformo, del que se reprecipitaron con n-hexano 60 mg de 3-(pirid-2-il-metila
15 mino)-tolipomicinona pura.

Ejemplos 35 a 40

5 ml de ácido L(+)-ascórbico disuelto en metanol (una solución al 10%) se añadieron, con agitación, a temperatura ambiente a 500 mg de cada una, a su
20 vez, de las 3-(amino sustituido)-tolipomicinonas mostradas en la Tabla I. El color de la solución cambió gradualmente del violeta al rojo-naranja. Después de 15 minutos, se detuvo la agitación, se añadieron 100 ml de
25 cloroformo y la fase orgánica se lavó con agua hasta un
10-2-75.

pH de 7. La fase orgánica se secó luego sobre sulfato de sodio y el disolvente se separó por evaporación. El producto obtenido se recogió en 2 ml de cloroformo, del que se reprecipitó con n-hexano.

5

Se obtuvieron las 3-(amino sustituido)--1,4-dihidrotolipomicinonas en cantidades correspondientes a rendimientos superiores al 90% del teórico. Su espectro UV se determinó en metanol y los resultados se recogen también en la Tabla 1.

10-2-75.

10-2-75.

TABLA 1

Ejemplo No	Sustituyente amínico en la posición 3	Espectro U.V.
35	2-tenilamino (Compuesto 36)	232 (4,39); 250 (4,30); 317 (4,22); 360 (3,64); 455 (3,77).
36	(2-morfolinoetil)-amino (Compuesto 37)	233 (4,30); 250 (4,26); 317 (4,22); 360 (3,63); 455 (3,77).
37	N,N-dimetilaminoetil-amino (Compuesto 38)	230 (4,32); 312 (4,17); 442 (3,72).
38	metilamino (Compuesto 39)	230 (4,19); 316 (4,05); 365 (3,49); 452 (3,63).
39	tetrahidrofurfurilamino (Compuesto 40)	
40	3-hidroxiopropilamino (Compuesto 41)	232 (4,24); 250 (4,20); 317 (4,12); 360 (3,61); 454 (3,70).

Luego se determinaron los datos de la con-
centración inhibitoria mínima para los compuestos pre-
parados anteriormente frente a diversas cepas de microor-
ganismos. Los ensayos se llevaron a cabo en caldos de
5 infusión de cerebro-corazón inoculados con 1×10^7 de
los microorganismos dados e incubados durante 18 horas.
Los resultados se determinaron después de 24 horas de
incubación a 37°C. Para fines de comparación, se lleva-
ron a cabo ensayos similares frente a la Tolipomicina Y
10 y frente a la tolipomicinona. Las concentraciones inhibi-
torias mínimas en mcg/ml para los compuestos 1, 2, 4,
6-9, 11-14, 16-23 y 26-35 frente a un número limitado
de microorganismos se recogen en la Tabla 2; los resul-
tados para los compuestos 3,5, 10, 12, 15, 24 y 25, así
15 como para la Tolipomicina Y, frente a un número mayor
de microorganismos, se recogen en la Tabla 3, y los re-
sultados para los compuestos 36 a 41 y la Tolipomicina
Y, se recogen en la Tabla 4.

10-2-75.

TABLA 2

Compues to	<u>Staph. aureus</u>		<u>Staph. aureus</u>		<u>Strept. pyogenes</u>	
	209 P	FDA	14/A		ATCC	12380
1	0,005		0,005 - 0,025		0,005 - 0,025	
2	0,1 - 0,25		-		-	
4	0,005		-		-	
6	<0,005		-		-	
7	0,005 - 0,025		-		-	
8	0,005 - 0,025		-		-	
9	0,1 - 0,25		-		-	
11	0,025		-		-	
13	0,25 - 0,5		-		-	
14	< 0,005		-		-	
16	<0,005		-		-	
17	<0,005		-		-	
18	0,05 - 0,025		-		-	
19	0,005 - 0,025		-		-	
20	<0,005		-		-	
21	0,1 - 0,05		-		-	
22	< 0,005		-		-	

10-2-75.

TABLA 2 (Cont.)

Compues to	<u>Bacillus cereus</u> ATCC 9634	<u>Sarcina lutea</u> ATCC 9341	<u>Klebsiella pneumo- niae Ottaviani</u>
1	0,1 - 0,25	<0,005	25 - 50
2	-	-	-
4	-	-	-
6	-	-	>100
7	-	-	-
8	-	-	25 - 50
9	-	-	-
11	-	-	25
13	-	-	-
14	-	-	50 - 100
16	-	-	> 100
17	-	-	12,5
18	-	-	12,5
19	-	-	25
20	-	-	100 - 50
21	-	-	50 - 25
22	-	-	>100

10-2-75.

TABLA 2 (Cont.)

<u>Compues</u> <u>to</u>	<u>Escherichia coli</u> ML/35	<u>Salmonella</u> p. <u>tiphy</u> B 0248 K Sclavo
1	50 - 100	50 - 100
2	-	-
4	-	-
6	100	25 - 50
7	-	-
8	6,25 - 12,5	6,25 - 12,5
9	-	-
11	12,5 - 25	12,5 - 25
13	-	-
14	25	12,5
16	>100	100 - 50
17	25	12,5
18	50 - 25	12,5
19	12,5	3
20	12,5 - 6,25	12,5 - 6,25
21	100	100 - 50
22	>100	50

10-2-75.

TABLA 2 (Cont.)

Compuesto	<u>Staph. aureus</u>		<u>Strept. pyone-</u> <u>nes</u> ATCC 12380
	209P	FDA	
23	< 0,005	-	-
26	0,005 - 0,025	-	-
27	0,005 - 0,025	-	-
28	< 0,005	-	-
29	0,005 - 0,025	-	-
30	< 0,005	-	-
31	0,05 - 0,1	-	-
32	0,005 - 0,025	-	-
33	0,005 - 0,025	-	-
34	0,005 - 0,025	-	-
35	< 0,005	-	-
Compuesto del Ejemplo 14 ^o	0,1 - 0,25	-	-
Tolipomicina Y	0,025	0,05	0,5 - 1
Tolipomicinona	0,25 - 0,5	0,25	0,5 - 1

^o 3 - cyclohexilamino - tolipomicinona

10-2-75.

TABLA 2 (Cont.)

Compuesto	<u>Bacillus cereus</u> ATCC 9634	<u>Sarcina lutea</u> ATCC 9341	<u>Klebsiella pneumoniae</u> <u>Ottaviani</u>
23	-	-	100
26	-	-	100 - 50
27	-	-	>100
28	-	-	6 - 12
29	-	-	50 - 100
30	-	-	50 - 100
31	-	-	>100
32	-	-	≈ 50
33	-	-	≈ 50
34	-	-	≈ 12
35	-	-	12,5
Compuesto del Ejemplo 14 ^o	-	-	-
Tolipomicina Y	0,1 - 0,25	<0,005	50 - 100
Tolipomicinona	-	-	-

10-2-75.

TABLA 2 (Cont.)

Compuesto	<u>Escherichia coli</u> ML/35	<u>Salmonella</u> <u>p. tify B</u> 0248 K Sclavo
23	100	100
26	50 - 25	12,5 - 25
27	>100	>100
28	6 - 12	≈12
29	12 - 25	12 - 25
30	50 - 100	50 - 100
31	>100	>100
32	≈50	≈50
33	25 - 50	25 - 50
34	≈12	6 - 12
35	3 - 6	12,5 - 25
Compuesto del Ejemplo 14 ^o	-	-
Tolipomicina Y	>100	>100
Tolipomicinona	-	-

10-2-75.

TABELLA 3

CEPA	Composto			
	Tolipomicina Y	3	5	10
<u>Staph. aureus</u> 209P FDA	0,025	0,005	<0,005	<0,005
<u>Staph. aureus</u> Colliiva	0,025 - 0,05	< 0,005	<0,005	<0,005
<u>Staph. aureus</u> 13/A	0,1 - 0,25	0,005 - 0,025	<0,005	0,005 - 0,025
<u>Staph. aureus</u> 14/A	0,05	< 0,005	<0,005	0,005 - 0,025
<u>Staph. aureus</u> ATCC 14154	0,05 - 0,1	0,005 - 0,025	<0,005	0,005 - 0,025
<u>Strept. pyogenes</u> ATCC 12380	0,5 - 1	0,005 - 0,025	<0,005	<0,005
<u>Bacillus cereus</u> ATCC 9634	0,1 - 0,25	± 0,05	0,005 - 0,025	0,025 - 0,05
<u>Klebsiella pneumoniae</u> <u>Ottaviani</u>	50 - 100	12,5 - 25	25 - 50	12,5 - 25
<u>Klebsiella pneumoniae</u> ATCC 10031	50 - 100	25 - 50	≈ 25	≈ 12
<u>Esch. coli</u> ML/35	> 100	25 - 50	6,25 - 12,5	3,125 - 6,25
<u>Esch. coli</u> ATCC 10586	50 - 100	25 - 50	6 - 12	≈ 25
<u>Salmonella p. tiphya</u> B 0248 K Sclavo	> 100	6,25 - 12,5	6,25 - 12,5	6,25 - 12,5

TABLA 3 (Cont.)

CEPA	Compuesto			
	Tolipomicina Y	3	5	10
<u>Shigella sonnei</u> ATCC 9290	50 - 100	> 50	12 - 25	12 - 25
<u>Shigella Flexneri</u> <u>Delli Carri</u>	50 - 100	25 - 50	12 - 25	25 - 50
<u>Shigella dissenteriae</u>	25 - 50	6 - 12	≈ 3	3 - 6
<u>Shigae</u> 90				
<u>Brucella abortus</u> 66/32 Bang ISM	6 - 12	≈ 12	< 1	< 1
<u>Proteus mirabilis</u> OXK ATCC 15146	25 - 50	12 - 25	6 - 12	25 - 50
<u>Proteus vulgaris</u> OX2 ATCC 7829	12 - 25	3 - 6	6 - 12	25 - 50

10-2-75.

TABLA 3 (Cont.)

CEPA	Compuesto			
	12	15	24	25
<u>Staph. aureus</u> 209P FDA	0,005 - 0,025	0,005	< 0,005	< 0,005
<u>Staph. aureus</u> Colliva	0,005	< 0,005	< 0,005	< 0,005
<u>Staph. aureus</u> 13/A	0,005 - 0,025	< 0,005	< 0,005	0,005 - 0,025
<u>Staph. aureus</u> 14/A	0,005 - 0,025	< 0,005	0,005 - 0,025	< 0,005
<u>Staph. aureus</u> ATCC 14154	0,025 - 0,05	< 0,005	< 0,005	0,005 - 0,025
<u>Strept. pyogenes</u> ATCC 12380	< 0,005	< 0,005	-	-
<u>Bacillus cereus</u> ATCC 9634	0,05 - 0,1	0,005 - 0,025	-	-
<u>Klebsiella pneumoniae</u> <u>Ottaviani</u>	12,5 - 25	12,5 - 25	12 - 25	12 - 25
<u>Klebsiella pneumoniae</u> ATCC 10031	12 - 25	< 25	15 - 25	12 - 25
<u>Esch. coli</u> ML/35	6,25 - 12,5	6,25	3	4,5
<u>Esch. coli</u> ATCC 10586	12 - 25	< 25	25	50 - 100
<u>Salmonella p. tify</u> B 0248 Sclavo	6,25 - 12,5	6,25 - 12,5	6,25 - 12,5	6,25 - 12,5

TABLA 3 (Cont.)

CEPA	Compuesto			
	12	15	24	25
<u>Shigella sonnei</u> ATCC 9290	~12	~6	3	12,5 - 25
<u>Shigella flexneri</u> Delli Carri	~50	~25	6 - 12	6 - 12
<u>Shigella dissenteriae</u>	1 - 3	3 - 6	-	-
<u>Shigae</u> 90				
<u>Brucella abortus</u> 66/32 Bang ISM	< 1	< 1	-	-
<u>Porteus mirabilis</u> OXK ATCC 15146	3 - 6	~6	25	6
<u>Porteus vulgaris</u> OX2 ATCC 7829	3 - 6	6 - 12	25	6 - 12

TABLA 4

Cepa	COMPUESTO									
	Tolipomicina Y	36	37	38	39	40	41			
<u>Staphylococcus aureus</u> 209 P FDA	0,025	<0,005	<0,005	<0,005	0,005	<0,005	0,005-0,025			
<u>Staphylococcus aureus</u> Colliva	0,025 - 0,05	—	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	0,005			
<u>Staphylococcus aureus</u> 13/A	0,1 - 0,25	—	0,005	0,005-0,025	0,005-0,025	<0,005	0,005-0,025			
<u>Staphylococcus aureus</u> 14/A	0,05	—	<0,005	0,025-0,05	0,005	<0,005	0,005-0,025			
<u>Staphylococcus aureus</u> ATCC 14154	0,05 - 0,1	—	0,005	0,025	0,025-0,05	0,005	0,005-0,025			
<u>Streptococcus pyogenes</u> ATCC 12380	0,5 - 1	—	<0,005	<0,005	0,005-0,025	0,005-0,025	0,005			
<u>Bacillus cereus</u> ATCC 9634	0,1 - 0,25	—	0,025-0,05	0,05	0,025-0,05	0,025-0,05	0,05-0,1			

TABLA 4 (Cont.)

Cepa	COMPUESTO									
	Tolipomicina Y	36	37	38	39	40	41			
<u>Klebsiella pneumoniae Ottaviani</u>	50 - 100	50 - 100	25 - 50	12 - 25	25 - 50	25 - 50	25 - 50			
<u>Klebsiella pneumoniae ATCC 10031</u>	50 - 100	—	25 - 50	12 - 25	25 - 50	25 - 50	25 - 50			
<u>Escherichia coli ML/35</u>	>100	12,5	6 - 12	6	12 - 25	6 - 12	6 - 12			
<u>Escherichia coli ATCC 10586</u>	50 - 100	—	12 - 25	25	25 - 50	12 - 25	25			
<u>Salmonella para tiphy B 0248 K</u> Sclavo	>100	25	6 - 12	6 - 12	25	12 - 25	12 - 25			
<u>Shigella sonnei</u> 9290 ATCC	50 - 100	—	12	12 - 25	>50	6 - 12	12 - 25			
<u>Shigella flexneri Delli Carri</u>	50 - 100	—	12 - 25	25 - 50	25 - 50	25	50			
<u>Shigella dissen- riae Shigae 90</u>	25 - 50	—	3	3 - 6	6 - 12	3 - 6	3 - 6			
<u>Brucella abortus 66/32 Bang ISM</u>	6 - 12	—	<1	<1	12	<1	<1			

10-2-75.

TABLA 4 (Cont.)

Gepa	COMPUESTO									
	Tolipomicina Y	36	37	38	39	40	41			
<u>Proteus mirabilis</u> OXX ATCC 15146	25 - 50	—	6 - 12	25 - 50	12 - 25	6	6			
<u>Proteus vulgaris</u> OX2 ATCC 7829	12 - 25	—	12 - 25	25 - 50	3 - 6	6 - 12	6 - 12			

Fueron infectados experimentalmente ratones con Staphylococcus aureus Colliva y la DP (dosis protectora) 50 se evaluó experimentalmente para algunos de los compuestos anteriores, administrados por vía oral. Se encontró que la DP 50 del compuesto 5 β -(2-morfolinoetilamino)-tolipomicinona fue de 1,85 mg/kg y que del compuesto 37 β -(2-morfolinoetilamino)-1,4-dihidro-tolipomicinona fue de 5 mg/kg.

La DL 50 se calculó para administración intraperitoneal en ratones y se encontró que era de 314,9 mg/kg (límites de confianza: 203,2-488,2) para el compuesto 15 β -(2-tetrahydrofuril)-metilamino-tolipomicinona. No fue posible calcular la DL 50 para administración oral, puesto que no había mortalidad incluso a dosis muy altas del orden de 1000 mg/kg.

La presente solicitud que corresponde a las presentadas en Gran Bretaña, el 15 de Marzo de 1.974, bajo el Nº 11674/74 y 1 de Noviembre de 1.974, bajo el Nº 47398/74, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

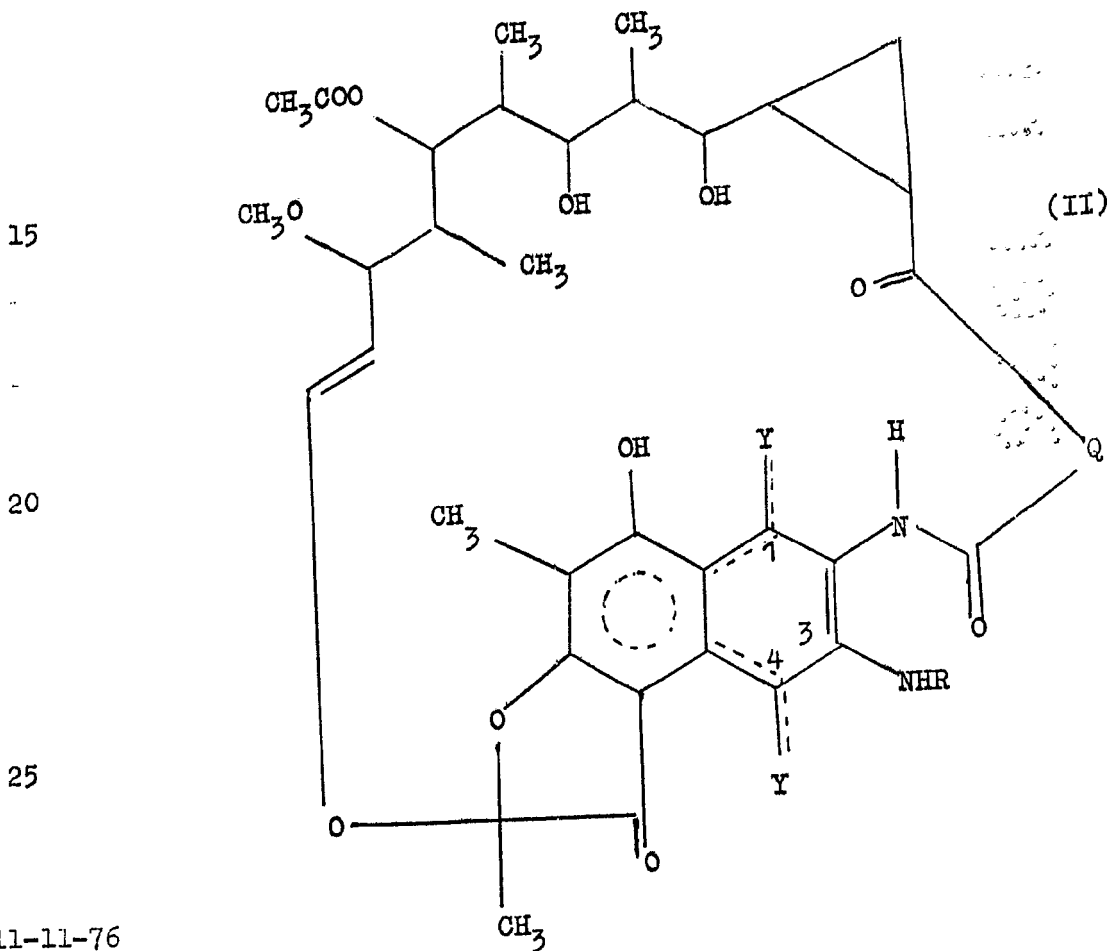
10-2-75.

REIVINDICACIONES

5

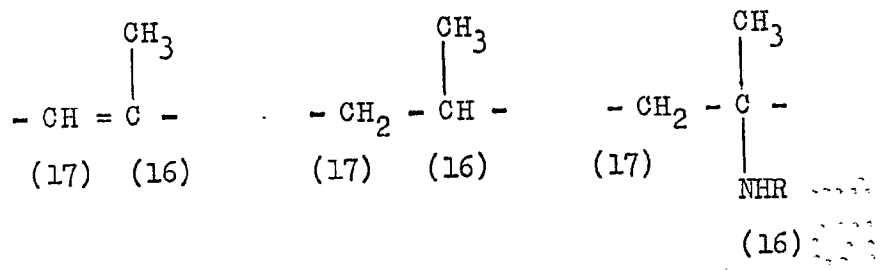
Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

10 1ª.- Un procedimiento para la preparación de nuevos derivados de tolipomicinona de fórmula (II):



5

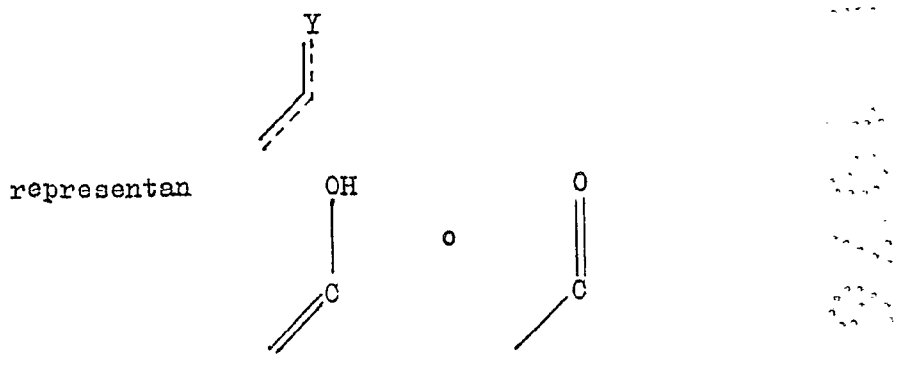
en la cual R representa un grupo hidrocarbonado alifático
co cuya cadena de átomos de carbono puede estar interrumpida
por uno o más átomos de oxígeno y/o azufre y/o nitrógeno,
y que puede estar sustituido o no sustituido; Q representa
uno de los grupos



10

(siendo R como se ha definido anteriormente); y los grupos:

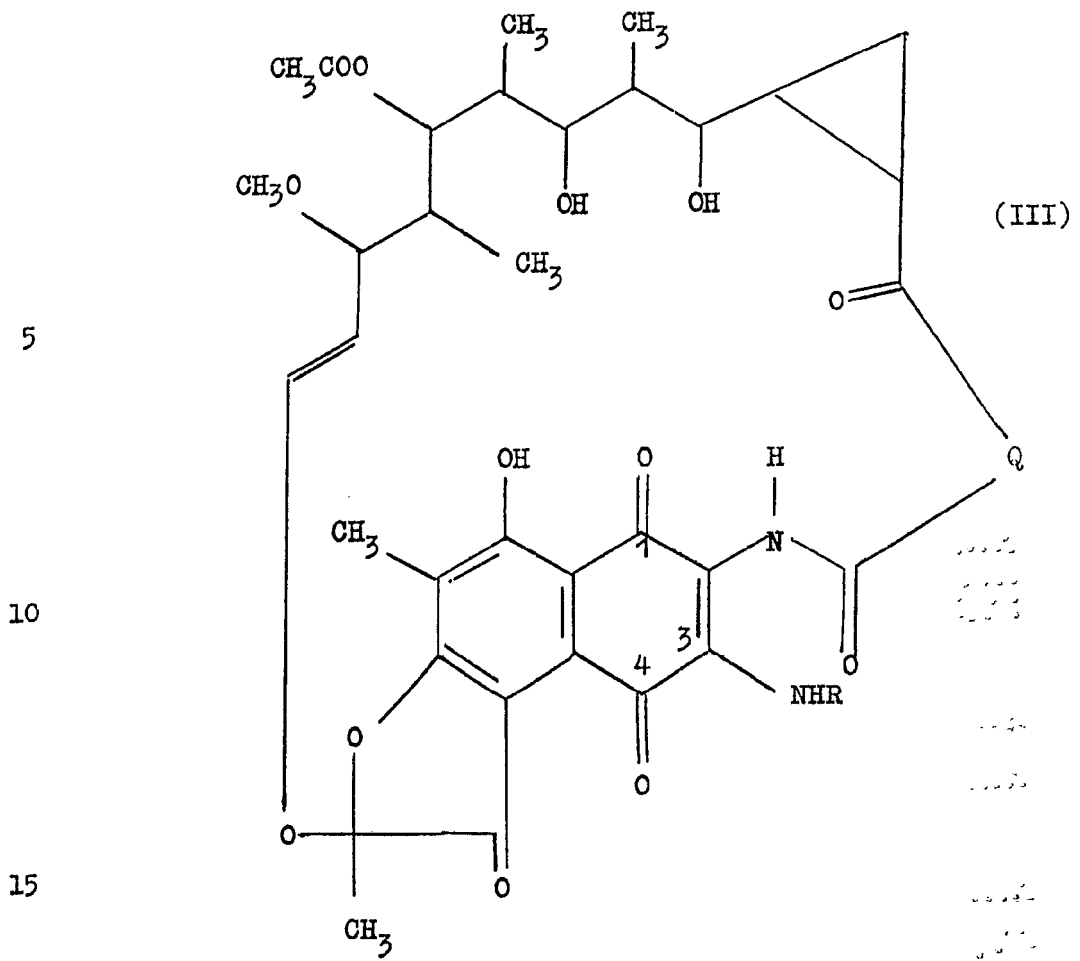
15



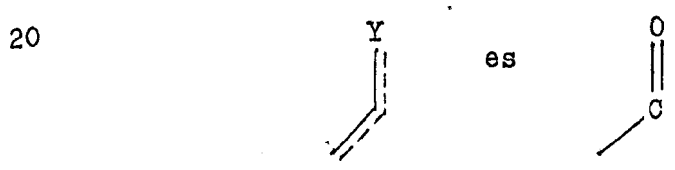
20

procedimiento que comprende hacer reaccionar tolipomicino
na o, respectivamente, 16,17-dihidrotolipomicinona con una
amina correspondiente, obteniendo así el compuesto de fórmula
III

25

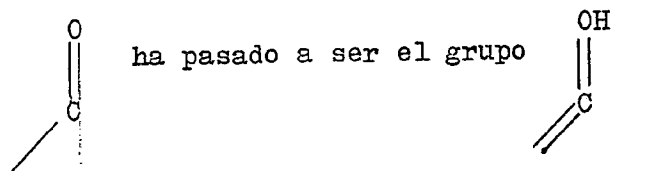


que es el compuesto de fórmula II en el que el grupo

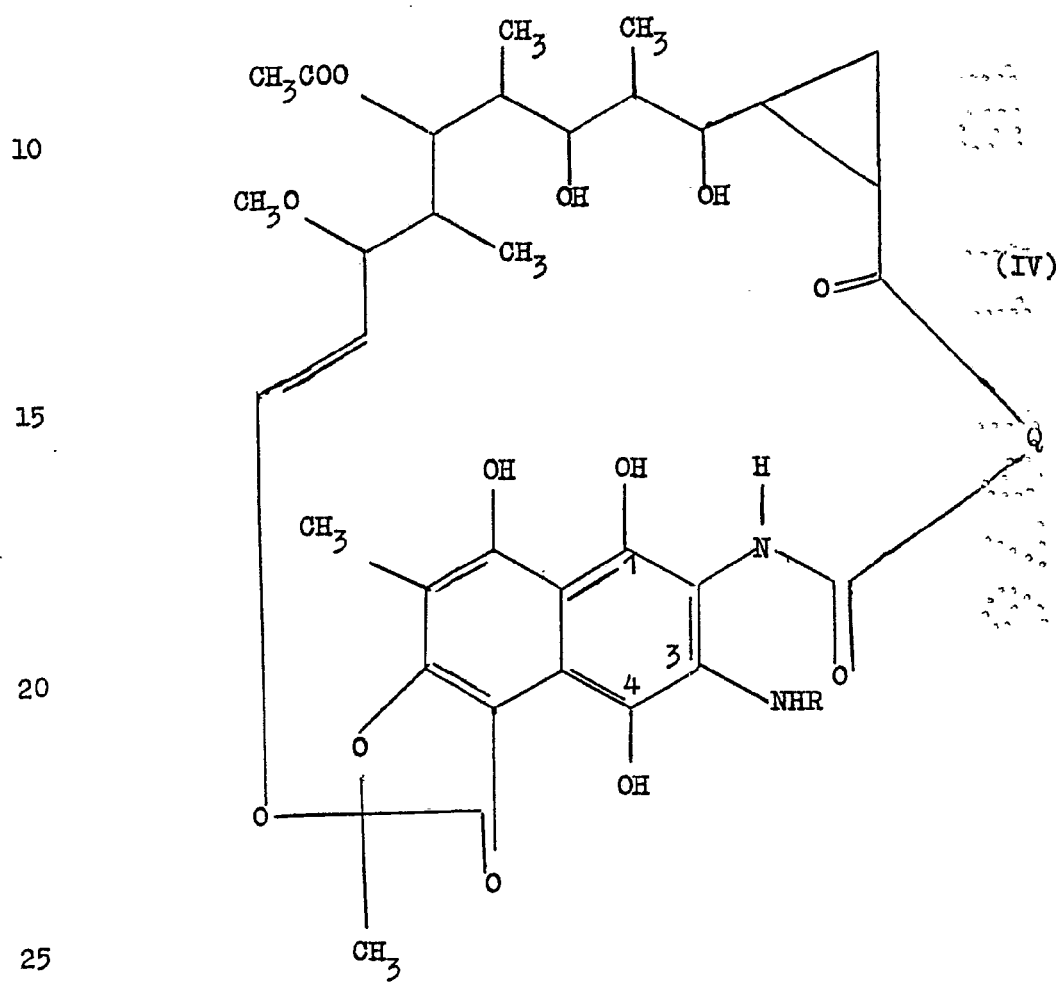


y, dado el caso, reducir el producto obtenido que tiene la fórmula III a un compuesto en el que el grupo

25



5 dando de este modo un compuesto que tiene la fórmula IV



en donde R y Q en las fórmulas III y IV son como se han definido anteriormente.

5 2ª.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1ª, en el cual la reacción se efectúa en presencia de un agente oxidante.

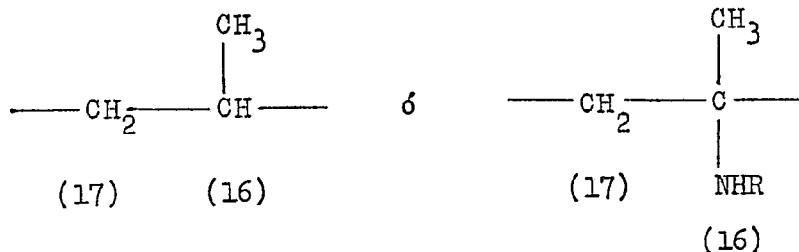
 3ª.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2ª, en el cual dicho agente oxidante es ferricianuro de potasio, dióxido de manganeso, persulfato de amonio o peróxido de hidrógeno.

10 4ª.- Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1ª, 2ª y 3ª, en el cual una cantidad equimolar o un exceso moderado de amina se hace reaccionar con dicha tolipomicinona para producir una 3-(amino sustituido)tolipomicinona.

15 5ª.- Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1ª, 2ª y 3ª, en el cual un gran exceso de dicha amina se hace reaccionar con dicha tolipomicinona para producir una 3,16-di-(amino sustituido)-16,17-dihidrotolipomicinona.

20 6ª.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1ª, en el cual se obtiene un compuesto de fórmula III en la que R es como se ha definido antes y Q representa uno de los grupos:

25



5

haciendo reaccionar 16,17-dihidrotolipomicinona con una amina correspondiente.

7ª.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6ª, en el cual la reacción se efectúa en presencia de un agente oxidante.

8ª.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 7ª, en el cual dicho agente oxidante es ferricianuro de potasio, dióxido de manganeso, persulfato de amonio o peróxido de hidrógeno.

9ª.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1ª, en el cual el agente reductor es ácido L(+)-ascórbico o hidrógeno en presencia de un catalizador.

10ª.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 9ª, en el cual la reacción se efectúa en presencia de un disolvente empleando como agente reductor ácido L(+)-ascórbico.

11ª.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 10ª, en el cual dicho disolvente es metanol

o etanol.

12ª.- Un procedimiento para la preparación de nuevos derivados de tolipomicinona.

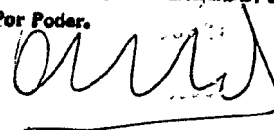
5 Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y para los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de ochenta y siete hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 15. NOV 1976

P.A.

Fernando de Elizaburu
Por Poder.



11-11-76

MCC.